

VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

Fakulta elektrotechniky
a komunikačních technologií

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA ELEKTROTECHNIKY A KOMUNIKAČNÍCH TECHNOLOGIÍ

FACULTY OF ELECTRICAL ENGINEERING AND COMMUNICATION

ÚSTAV BIOMEDICÍNSKÉHO INŽENÝRSTVÍ

DEPARTMENT OF BIOMEDICAL ENGINEERING

BIOLOGICKÁ ANALÝZA V BLÍZKÉ IR OBLASTI

BIOLOGICAL ANALYSIS IN NIR

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Lukáš Vašík

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

Ing. Vratislav Čmiel, Ph.D.

BRNO 2021

Bakalářská práce

bakalářský studijní program **Biomedicínská technika a bioinformatika**

Ústav biomedicínského inženýrství

Student: Lukáš Vašík

ID: 209491

Ročník: 3

Akademický rok: 2020/21

NÁZEV TÉMATU:

Biologická analýza v blízké IR oblasti

POKYNY PRO VYPRACOVÁNÍ:

1) Proveďte rešerši v oblasti analýzy složení biologických látek a potravin optickými metodami, zaměřte se na optické analýzy v blízké IR oblasti (NIR). 2) Zabývejte se složením látek, jejichž struktura ovlivňuje záření v blízké IR oblasti a způsoby ovlivnění. 3) Prostudujte běžné postupy, metodiku a algoritmy využívané pro analýzy IR spekter biologických vzorků. 4) Vyberte vhodnou skupinu několika látek a měřením získejte sady spekter s využitím optického analyzátoru v blízké IR oblasti. 5) Navrhněte algoritmus pro zpracování naměřených spektrálních dat za účelem identifikace a klasifikace měřených látek. Využijte k tomu také umělé neuronové sítě. 6) Vytvořte v prostředí Matlab jednoduché uživatelské prostředí pro načtení a klasifikaci látek na základě získaných spektrálních dat. Realizujte a uplatněte navržený algoritmus. 7) Vyhodnoťte úspěšnost klasifikace na základě dosažených výsledků. Proveďte nad výsledky diskusi.

DOPORUČENÁ LITERATURA:

[1] TKACHENKO, V. N. Optical Spectroscopy - Methods and Instrumentations. Elsevier, 2006. ISBN 978-0-444-52126-2

[2] RODUNER, E., FORBES, P., KRUGER, T. Optical Spectroscopy: Fundamentals and Advanced Applications. WSPC, 2018. ISBN-13: 978-1786346100

Termín zadání: 8.2.2021

Termín odevzdání: 28.5.2021

Vedoucí práce: Ing. Vratislav Čmiel, Ph.D.

doc. Ing. Jana Kolářová, Ph.D.
předseda rady studijního programu

UPOZORNĚNÍ:

Autor bakalářské práce nesmí při vytváření bakalářské práce porušit autorská práva třetích osob, zejména nesmí zasahovat nedovoleným způsobem do cizích autorských práv osobnostních a musí si být plně vědom následků porušení ustanovení § 11 a následujících autorského zákona č. 121/2000 Sb., včetně možných trestněprávních důsledků vyplývajících z ustanovení části druhé, hlavy VI. díl 4 Trestního zákoníku č.40/2009 Sb.

Bachelor's Thesis

Bachelor's study program **Biomedical Technology and Bioinformatics**

Department of Biomedical Engineering

Student: Lukáš Vašík

ID: 209491

**Year of
study:** 3

Academic year: 2020/21

TITLE OF THESIS:

Biological analysis in NIR

RECOMMENDED LITERATURE:

[1] TKACHENKO, V. N. Optical Spectroscopy - Methods and Instrumentations. Elsevier, 2006. ISBN

978-0-444-52126-2

[2] RODUNER, E., FORBES, P., KRUGER, T. Optical Spectroscopy: Fundamentals and Advanced Applications. WSPC, 2018. ISBN-13: 978-1786346100

**Date of project
specification:** 8.2.2021

Deadline for submission: 28.5.2021

Supervisor: Ing. Vratislav Čmiel, Ph.D.

doc. Ing. Jana Kolářová, Ph.D.
Chair of study program board

WARNING:

The author of the Bachelor's Thesis claims that by creating this thesis he/she did not infringe the rights of third persons and the personal and/or property rights of third persons were not subjected to derogatory treatment. The author is fully aware of the legal consequences of an infringement of provisions as per Section 11 and following of Act No 121/2000 Coll. on copyright and rights related to copyright and on amendments to some other laws (the Copyright Act) in the wording of subsequent directives including the possible criminal consequences as resulting from provisions of Part 2, Chapter VI, Article 4 of Criminal Code 40/2009 Coll.

Abstrakt

Cílem této semestrální práce je získání informací o analýzách pomocí infračerveného záření. Zaměřena je zejména na optické analýzy v blízké IR oblasti. Teoretická část se zabývá vlivem infračerveného záření na látky a principy fungování IR spektrometrů. Praktická část je zaměřena na analýzu spekter zkoumaných látek, podobnost mezi spektry různých látek a klasifikaci zkoumaných látek pomocí strojového učení.

Klíčová slova

infračervené záření, NIR spektroskopie, NeoSpectra, analýza potravin, neuronová síť

Abstract

The purpose of this semester work is to obtain information about analyzes by IR radiation. It focuses mainly on optical analyzes in the near IR region. The theoretical part deals with the influence of IR radiation on substances and the principles of functions of IR spectrometers. The practical part is focused on the analysis of spectra of substances, the similarity between the spectra of different substances and the classification of substances using machine learning.

Keywords

infrared radiation, NIR spectroscopy, NeoSpectra, food analysis, neural network

Bibliografická citace

V AŠÍK, Lukáš. *Biologická analýza v blízké IR oblasti* [online]. Brno, 2021 [cit. 2021-05-28]. Dostupné z: <https://www.vutbr.cz/studenti/zav-prace/detail/134810>. Bakalářská práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta elektrotechniky a komunikačních technologií, Ústav biomedicínského inženýrství. Vedoucí práce Vratislav Čmiel.

Prohlášení autora o původnosti díla

Jméno a příjmení studenta:	Lukáš Vašík
VUT ID studenta:	209491
Typ práce:	Bakalářská práce
Akademický rok:	2020/21
Téma závěrečné práce:	Biologická analýza v blízké IR oblasti

Prohlašuji, že svou závěrečnou práci jsem vypracoval samostatně pod vedením vedoucí/ho závěrečné práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou všechny citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce.

Jako autor uvedené závěrečné práce dále prohlašuji, že v souvislosti s vytvořením této závěrečné práce jsem neporušil autorská práva třetích osob, zejména jsem nezasáhl nedovoleným způsobem do cizích autorských práv osobnostních a jsem si plně vědom následků porušení ustanovení § 11 a následujících autorského zákona č. 121/2000 Sb., včetně možných trestněprávních důsledků vyplývajících z ustanovení části druhé, hlavy VI. díl 4 Trestního zákoníku č. 40/2009 Sb.

V Brně dne:

podpis autora

Poděkování

Rád bych poděkoval vedoucímu bakalářské práce panu Ing. Vratislavu Čmielovi, Ph.D. za odborné vedení, konzultace, pomoc v laboratoři, trpělivost a podnětné návrhy k práci.

V Brně dne:

podpis autora

Obsah

SEZNAM SYMBOLŮ A ZKRATEK.....	10
SEZNAM OBRÁZKŮ.....	11
SEZNAM TABULEK.....	12
ÚVOD.....	13
1. ANALYTICKÉ OPTICKÉ METODY.....	14
1.1 ELEKTROMAGNETICKÉ ZÁŘENÍ	14
1.2 METODY OPTICKÉ DETEKCE.....	14
1.2.1 Spektrofotometrie	14
1.2.2 Refraktometrie a interferometrie.....	16
1.2.3 Turbidimetrie a nefelometrie	17
1.2.4 Infračervená spektroskopie.....	17
1.2.5 Ramanova spektroskopie	18
2. VLIV INFRAČERVENÉHO ZÁŘENÍ NA STRUKTURY LÁTEK.....	19
2.1 ÚČINKY INFRAČERVENÉHO ZÁŘENÍ NA LÁTKY	19
2.1.1 Propustnost látek.....	19
2.1.2 Nejužívanější optické materiály pro infračervený obor	20
2.1.3 Protidrazové vrstvy pro infračervený obor	20
2.2 TYPY VIBRAČNÍCH PŘECHODŮ	20
3. PŘÍSTROJOVÉ VYBAVENÍ PRO ANALÝZU POMOCÍ INFRAČERVENÉHO ZÁŘENÍ	22
3.1 ZÁKLADNÍ SCHÉMA IR SPEKTROMETRU	22
3.2 DISPERZNÍ IR SPEKTROMETRIE	22
3.3 NEDISPERZNÍ IR SPEKTROSKOPIE.....	23
3.4 INTERFEROMETRICKÝ IR SPEKTROMETR	24
4. VYUŽITÍ MIR A RAMANOVY SPEKTROSKOPIE PŘI ANALÝZE POTRAVIN.....	26
4.1 VYUŽITÍ NEOSPECTRA NIR SPEKTROFOTOMETRŮ V HOSPODÁŘSTVÍ	26
4.1.1 Popis přístroje NeoSpectra.....	26
4.1.2 Analýza potravin pomocí přístroje Neospectra.....	27
5. ANALYTICKÉ METODY VYUŽÍVANÉ PŘI ANALÝZÁCH IR SPEKTER.....	29
5.1 ANALÝZA HLAVNÍCH KOMPONENT.....	29
5.2 HIERARCHICKÁ SHLUKOVÁ ANALÝZA	30
5.3 NEURONOVÉ SÍTĚ.....	30
6. PRAKTICKÁ ČÁST.....	31
6.1 POPIS PŘÍSTROJE	31
6.1.1 NeoSpectra-Micro.....	31
6.1.2 Software SpectroMOST_Micro	33
6.1.3 Spektralon.....	34
6.1.4 Kyvety.....	35
6.1 POPIS POUŽÍVANÝCH LÁTEK	36

7. NAMĚŘENÁ DATA A DISKUSE VÝSLEDKŮ.....	41
7.1 PŘEDZPRACOVÁNÍ A POROVNÁNÍ NAMĚŘENÝCH SPEKTER	41
7.2 APLIKACE PRO KLASIFIKACI NEZNÁMÉ LÁTKY	47
8. ZÁVĚR.....	53
LITERATURA.....	54
SEZNAM PŘÍLOH.....	57

SEZNAM SYMBOLŮ A ZKRATEK

Zkratky:

AAKG	arginin
API	aplikační programovací rozhraní
BCAA	branched-chain amino acids
BCAT	aminotransferáza s rozvětveným řetězcem
FEKT	Fakulta elektrotechniky a komunikačních technologií
FIR	vzdálené infračervené záření
FTIR	infračervený spektrometr s Fourierovou transformací
HCA	hierarchická shluková analýza
IR	infračervené záření
MEMS	mikroelektromechanické systémy
MIR	střední infračervená oblast
NIR	blízké infračervené záření
PCA	analýza hlavních komponent
PC	hlavní komponenta
SDK	Software Development Kit
UV	ultrafialová
VIS	viditelná oblast
VUT	Vysoké učení technické v Brně

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1.1 Absorpce světla vzorkem [2].....	15
Obrázek 1.2 Schéma absorpčního spektrometru [2].....	16
Obrázek 1.3 Princip měření pomocí nefelometrie a turbidimetrie [2].....	17
Obrázek 2.1 Znázornění některých vibračních pohybů molekuly z pohledu klasické fyziky. [4].....	21
Obrázek 3.1 Schematické znázornění disperzního Ramanova spektra. [28].....	23
Obrázek 3.2 Schematické znázornění nedisperzního Ramanova spektra. [28]	24
Obrázek 3.3 Schéma Michelsonova interferometru [4].....	24
Obrázek 6.1 Přístroj NeoSpectra [10]	31
Obrázek 6.2 Blokové schéma Michelsonova interferometru [10].....	32
Obrázek 6.3 Monolitický Michelsonův enterferometrický čip využívající SiMOST [10].....	32
Obrázek 6.4 Uživatelské prostředí Softwaru SpectroMOST_Micro	33
Obrázek 6.5 Schéma pro Software Development Kit [10]	34
Obrázek 6.6 Spektralon Labshare Reflectance Standart.....	34
Obrázek 6.7 Závislost reflektance spektralonu na vlnové délce [31]	35
Obrázek 6.8 Snímek skleněné misky	35
Obrázek 6.9 Snímek rychlouzavíratelných ZIP sáčků.....	36
Obrázek 6.10 Měřené vzorky ve skleněných miskách a ZIP sáčcích	37
Obrázek 7.1 Padesát naměřených spekter cukru.	41
Obrázek 7.2 Sto naměřených spekter kávy.....	41
Obrázek 7.3 Předzpracovaná spektra cukru.	42
Obrázek 7.4 Předzpracovaná spektra kávy.	42
Obrázek 7.5 Porovnání spekter cukru a kávy.....	43
Obrázek 7.6 Dendrogram vzorků cukru a kávy	43
Obrázek 7.7 Spektra použitých kyvet.....	44
Obrázek 7.8 Spektra všech vzorků měřených v ZIP sáčcích	44
Obrázek 7.9 Spektra všech vzorků měřených ve skleněných miskách	45
Obrázek 7.10 Spektra Argininu ve skleněné misce a v ZIP sáčku	45
Obrázek 7.11 Spektra Karnitinu ve skleněné misce a v ZIP sáčku	46
Obrázek 7.12 Spektra Proteinu a Pro Amino ve skleněných miskách.....	46
Obrázek 7.13 Porovnání spektra Argininu, BCAA a Glutaminu ve skleněných miskách	47
Obrázek 7.14 Schéma úpravy dat.....	48
Obrázek 7.15 Nastavení neuronové sítě	48
Obrázek 7.16 Rozložení trénovacích dat	49
Obrázek 7.17 Uživatelské prostředí aplikace pro rozpoznání neznámé látky	49
Obrázek 7.18 Aplikace na klasifikaci neznámé látky - cukr ve skleněné misce	50
Obrázek 7.19 Aplikace na klasifikaci neznámé látky - protein v ZIP sáčku.....	50
Obrázek 7.20 Aplikace na klasifikaci neznámé látky - mouka ve skleněném sáčku	51

SEZNAM TABULEK

Tabulka 2.1 Rozdělení infračerveného záření podle vlnových délek. [11].....	19
Tabulka 7.1 Technické specifikace přístroje NeoSpectra[10].....	33
Tabulka 7.2 Tabulka použitých látek	36
Tabulka 7.1 Výsledky učení neuronové sítě pro vzorky ve skleněných miskách.....	51
Tabulka 7.2 Výsledky učení neuronové sítě pro vzorky v ZIP sáčcích	52
Tabulka 7.3 Výsledky úspěšnosti aplikace	52

ÚVOD

V bakalářské práci se zabývám tématem Biologická analýza v oblasti blízké IR. Práci jsem si vybral, protože analýza potravin je velmi důležitá. Zrakové vjemy nám dávají informaci o barvě, tvaru, velikosti a povrchu potraviny. Jenže to nám nedá informaci o složení potravin. Za použití IR spektroskopie dokážeme nedestruktivně určit kvalitu potravin, správně nacenit různé odrůdy plodů, analyzovat množství cukru v obilovinách a správně identifikovat druhy podobně vypadajících ryb.

Teoretická část je zaměřená na seznámení se s optickými metodami a problematikou elektromagnetického záření. Následně se práce zaměřuje na vliv IR na struktury látek, princip fungování spektrofotometrů, využití IR spektrofotometrů v průmyslu a zpracování IR spektra dnešními technologiemi. Nakonec se porovnává spektra naměřených látek.

V praktické části práce se zaměřuji na výběr skupiny látek, ze kterých následně změřím jejich spektra s použitím optického analyzátoru v blízké IR oblasti. Vytvořil algoritmus pro zpracování naměřených spektrálních dat za účelem identifikace a klasifikace měřených látek. Identifikace látek se provádí pomocí učení neuronové sítě.

1. ANALYTICKÉ OPTICKÉ METODY

1.1 Elektromagnetické záření

Pojem vlnově-korpuskulární dualismus se používá při popisu chování elektromagnetického záření. Některé experimenty se totiž snadněji vysvětlí, pokud budeme na světlo pohlížet jako na vlnu, která se šíří prostorem. Naopak pro jiné experimenty je mnohem výhodnější se na světlo nahlížet jako na proud částic, které nazýváme fotony. Na elektromagnetické záření pohlížíme jako na vlny, které mění své elektrické a magnetické pole s určitou frekvencí. Změny těchto polí se pak vyskytují ve tvaru postupné vlny. K popisu vlnové délky se používá řecké písmeno λ . Občas se zmiňuje vlnčet, který slouží jako počet vln za jednotku délky. Elektromagnetické spektrum se pak skládá z více frekvencí elektromagnetických vln. Každá frekvence a jí náležící vlnová délka má určitou energii. Pokud budeme nahlížet na elektromagnetické spektrum jako na částici, tak neuvažujeme, že by se energie například při emisi nebo absorpci měla předávat spojitě. Uvažujeme tedy, že energie se předává diskrétně po částech neboli po kvantech. Tato kvanta nazýváme jako fotony. K charakteristice záření právě používáme tyto fotony. Jestliže elektromagnetická vlna má frekvenci f [Hz], tak pomocí této teorie je energie E [J] předaná právě jedním fotonem rovna:

$$E = hf \quad (2.1)$$

To je energie fotonu, kde h [Js] je Planckova konstanta a má hodnotu $h = 6,626 \cdot 10^{-34} \text{ Js}$ [2][13]

1.2 Metody optické detekce

Protože každý materiál má jedinečnou odezvu na světlo, analýza světla interagujícího s určitým materiálem může odhalit mnoho informací o jeho složení. Spektroskopie spočívá v analýze světla k určení vlastností materiálů. Obecně je výhodou, že jsou nedestruktivní, to znamená, že vzorek při analýze není poškozen nebo modifikován a může být následně použit pro další analýzy. [2][10]

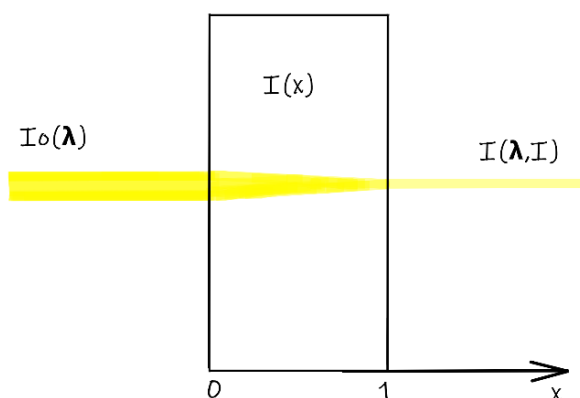
1.2.1 Spektrofotometrie

Absorpční spektroskopie, která se také někdy nazývá jako fotometrie je základní a nejpoužívanější spektroskopickou technikou. Spektrofotometry se používají především pro stanovení koncentrace látek absorbujících (nebo vyzařujících) infračervené, viditelné nebo ultrafialové světlo. Tuto metody lze využít pro studium chemické struktury látek či sledování kinetiky chemických reakcí. Absorpční spektrofotometry měří spektrální závislost absorpce světla v látkách, která odráží jejich elektronovou strukturu. Průchodem světelného paprsku skrze vzorek způsobuje exponenciální pokles intenzity světla (obr.2.1) podle Lambert-Beerova zákona:

$$I(\lambda) = I_0(\lambda) 10^{-\varepsilon(\lambda) c l} \quad (2.2)$$

kde I_0 [$\text{W} \cdot \text{m}^{-2}$] značí intenzitu dopadajícího paprsku, I [$\text{W} \cdot \text{m}^{-2}$] intenzitu prošlého paprsku, l [m] tloušťku vzorku a c [$\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$] koncentraci vzorku. Molární absorpční koeficient ε [$\text{mol}^{-1} \cdot \text{m}^2$] a jeho závislost na vlnové délce jsou charakteristické pro každou molekulu. Informace o chemické složení vzorku můžeme dostat právě tímto měřením extinkčního koeficientu. Spektrometry během měření obvykle ukazují hodnoty absorbance A [-], která je přímo úměrná koncentraci vzorku. Absorbance je bezrozměrná veličina.

$$A = \log(I_0/I) = \varepsilon(\lambda) c l \quad (2.3)$$

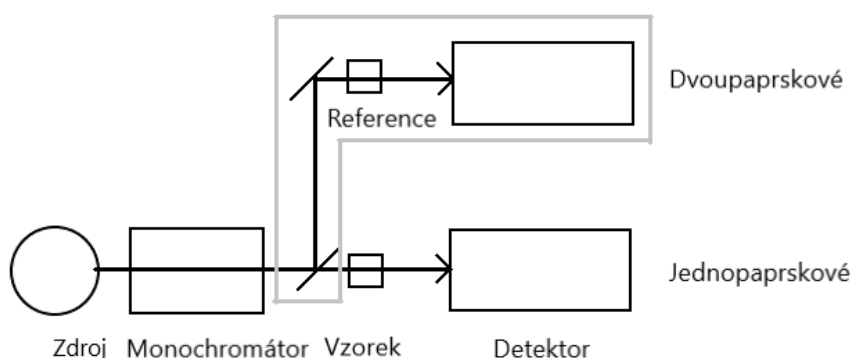


Obrázek 1.1 Absorpce světla vzorkem [2]

Absorpční spektrometr se běžně skládá ze zdroje světla, monochromátoru, jímž získáváme ze světla polychromatického světlo monochromatické, držáku vzorku a detektoru světla (obr.2.2). Při měření dochází pouze k relativnímu srovnání vzorku, a dále spoléháme na to, že všechny jamky budou obsahovat identický objem roztoku. Imunoanalytická metoda ELISA je jedna z metod, která využívá mikrojамkové destičky. Pro pevné netransparentní vzorky platí, že se jejich absorpční spektrum určuje nepřímo, pomocí reflexní spektrometrie. Reflexní spektrum je doplňkové spektrum spektra absorpčního. Jedná-li se o čistý vzorek, tak lze měřit absorbance pouze na jedné vlnové délce. V případě biologických vzorků je to složitější, protože obsahuje řadu nečistot. Proto se absorbance analytu měří na více vlnových délkách.

Emisní spektrofotometry jsou pro medicínu méně významné. V tomto případě je zdrojem světla sama analyzovaná látka, která se v roztoku rozprašuje nebo vstříkává do bezbarvého plamene, nebo se nachází v elektrodách, mezi kterými „hoří“ elektrický oblouk. V biomedicínských laboratořích je nejvíce využívanou metodou absorpční spektrofotometrie. Spektrofotometry dělíme dle konstrukce na jednopaprskové a dvoupaprskové (obr. 1.4). U jednopaprskové spektrofotometrie měříme pomocí jediného světelného paprsku, který prochází měřeným a srovnávacím vzorkem. Pro měření srovnávacího a zkoumaného roztoku se musí měnit kyveta. Zatímco dvoupaprskové

spektrofotometry umožňují porovnávat intenzitu dvou světelných paprsků, z nichž jeden prochází vzorkem měřeným a druhý srovnávacím. Během měření je poloha kyvet stabilní. Dvoupaprskové přístroje jsou nákladnější, ale umožňují rychlejší měření. Vlnová délka světla se u jednodušších přístrojů provádí ručně nebo automaticky, což umožňuje automatické získávání absorpčních křivek. Absorpční křivka je závislost míry absorpce světla ve vzorku na vlnové délce světla. [2][6]



Obrázek 1.2 Schéma absorpčního spektrometru [2]

1.2.2 Refraktometrie a interferometrie

Tyto metody jsou založeny na rozdílu indexu lomu mezi analytem a prostředím. V pravém slova smyslu se nejedná o spektroskopické metody, jelikož sledujeme makroskopický efekt bez studia závislosti na vlnové délce světla.

Refraktometrie

Refraktometry měří index lomu látek, nejčastěji kapalin, a nepřímo stanovují koncentrace roztoků. Absolutní index lomu n [-] je definován výrazem

$$n = c/v, \quad (2.4)$$

kde c [$\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$] je rychlost světla ve vakuu a v [$\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$] je rychlost světla v daném prostředí. Chování světelného paprsku na rozhraní dvou opticky stejných látek o indexech lomu n_1 a n_2 popisuje Snellův zákon:

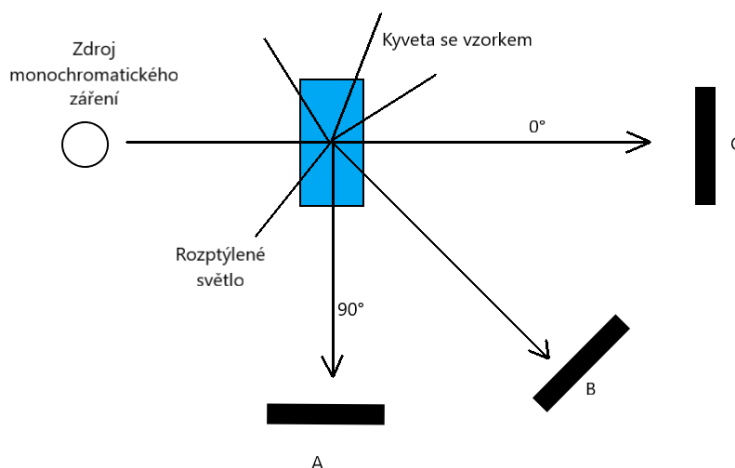
$$\sin a / \sin B = n_2/n_1 = v_1 / v_2, \quad (2.5)$$

kde a je úhel dopadu z prostředí o indexu lomu n_1 [-]. B [$^\circ$] je úhel lomu, tj. úhel mezi lomeným paprskem a kolmicí lomu, pod níž se paprsek láme do prostředí o indexu lomu n_2 [-], v_1 [$\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$] a v_2 [$\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$] jsou rychlosti světla v odpovídajících prostředích. Prostředí opticky hustší je prostředí o vyšším indexu lomu. Interferometry také slouží k měření indexu lomu, a to na základě interference dvou světelných paprsků, z nichž jeden je průchodem přes optické prostředí o známé tloušťce a indexu lomu fázově posunut. Ke konstruktivní interferenci dojde, právě pokud jsou dvě vlny ve fázi. Naopak pokud mají fáze opačné, dojde k destruktivní interferenci. Jelikož se světlo pohybuje v látce s větším indexem lomu pomaleji, tak dochází ke „zpoždění“, čili k posunu fáze. Informace o čistotě a koncentraci látek lze získat ze srovnání interferenčního obrazce vzorku a

obrazcem standardu. Interferometrie vyžaduje podstatně náročnější experimentální vybavení. [2] [6]

1.2.3 Turbidimetrie a nefelometrie

Tyto metody jsou založeny na Rayleighovu rozptylu světla. Je-li ke stanovení analytu využito rozptýlené záření, tak dochází při zvýšení koncentrace analytu k nárůstu signálu – nefelometrie. Pokud je intenzita světla naměřena ve směru jeho dopadu (turbidimetrie), tak má rozptyl záření za následek pokles intenzity světla (obr. 2.5). Turbidimetrie je vhodnější pro analýzu koncentrovanějších roztoků, naopak nefelometrie je řádově citlivější. Turbidimetrie je užitečná jak pro imunochemická stanovení, tak i pro stanovení celkových proteinů v moči. Aktivita enzymu má za následek snížení turbidity vzorku. V nefelometrii (obr. 2.5) se využívá rozptyl záření A,B. Turbidimetrie využívá dopad záření C. [2]



Obrázek 1.3 Princip měření pomocí nefelometrie a turbidimetrie [2]

1.2.4 Infračervená spektroskopie

FTIR spektroskop

IR spektroskopie je velmi důležitá analytická technika, kterou lze studovat téměř všechny typy vzorků. Infračervená spektroskopie patří do skupiny nedestruktivních analytických metod, kdy měřený vzorek není během měření nijak poškozen, a přesto nám poskytuje základní informace o jeho složení. Spektroskopie je studium fyzikálních a chemických vlastností materiálů analýzou jejich reakce na světlo. Každá chemická složka má jedinečný spektrální vzor. Analýza spektrální odezvy látek říká hodně o jejich chemickém složení a koncentraci. Existuje mnoho konvenčních topologií pro spektrometrické vybavení, včetně FTIR, které nabízejí několik výkonových a nákladových výhod. Tento přístroj používá interferometr a matematický proces Fourierovy transformace. Infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací nám umožňuje

studovat vzorky ve vodném prostředí. To zlepšilo kvalitu IR spekter a minimalizovalo čas potřebný k získání dat. Touto metodou měříme absorpci IR o různé vlnové délce při průchodu analyzovaným vzorkem. To vede ke vzniku charakteristických spekter, skládajících se z tzv. absorpčních pásů. Poloha absorpčních pásů odpovídá charakteristickým skupinám obsažených ve sloučeninách, což nám pomáhá při identifikaci. Graficky se to znázorňuje v procentech transmitance nebo jednotkách absorbance na vlnové délce dopadajícího záření. [3][4][10]

1.2.5 Ramanova spektroskopie

Je to optická metoda vibrační molekulové spektroskopie a je založena na jevu neelastického optického rozptylu. Pomocí této metody se dokáže identifikovat látky za pomoci určení jejich složení a struktury. Metoda je založena na principu, že část záření látkou pronikne, další část je rozptýlena a poslední část je absorbována. Z důvodu rozptylu záření dojde v molekule ke změně energetických hladin vazebných elektronů. Vzniká jak při elastických srážkách fotonů s molekulami vzorku a s jejich vibrujícími kovalentními chemickými vazbami, tak i při neelastických srážkách, kdy dojde k poklesu frekvence rozptýleného záření, které vzniklo těmito srážkami. [5]

2. VLIV INFRAČERVENÉHO ZÁŘENÍ NA STRUKTURY LÁTEK

IR vyzařují všechna tělesa. I lidské tělo září, v porovnání se Sluncem ovšem na větších vlnových délkách. Pro IR platí stejné zákony jako pro viditelné světlo. Lze sestavit optické soustavy, které používají optické prvky zhotovené ze speciálních materiálů (např. NaCl). Můžeme tak sestavit dalekohled nebo fotoaparát a využít důležité vlastnosti IR procházet zakaleným prostředím. Po stránce kvantitativní jeví však látky v infračerveném oboru vzhledem k rozdílné vlnové délce podstatné rozdíly v optických vlastnostech oproti oboru viditelnému. Látky, které světlo dokonale propouštějí, např. optická skla, jsou ve většině infračerveného oboru zcela nepropustné. Naopak zase některé látky pro světlo nepropustné jsou v určitých vlnových pásmech infračerveného oboru dokonale propustné. Podobně jeví látky podstatné rozdíly v odrazivosti, velikosti indexů lomu apod. To má pro infračervenou techniku a její aplikace řadu významných důsledků, někdy nepříznivých. IR navazuje na viditelné záření na jedné straně a na mikrovlnné záření na straně druhé. Infračervenou spektroskopii z praktických důvodů dělíme podle vlnových délek záření na FIR, MIR a NIR. Energie fotonů infračerveného záření (1-60 kJ/mol) nestačí pro excitaci elektronů v molekulových orbitalech, ale je stačí ke změně vibračního či rotačního stavu molekuly. Molekuly jsou tvořeny atomy, které nejsou spojeny rigidními vazbami, ale tyto vazby vykazují určitou pružnost. To znamená, že tento systém atomů může různými způsoby vibrovat. Vibrační pohyb si představujeme jako periodickou změnu mezijaderné vzdálenosti mezi atomy. [4][11]

Tabulka 2.1 Rozdělení infračerveného záření podle vlnových délek. [11]

Viditelné světlo	$\lambda = 330 - 790\text{nm}$
Blízké infračervené záření (NIR)	$\lambda = 790 - 2500\text{nm}$
Střední infračervené záření (MIR)	$\lambda = 2, 5 - 15\mu\text{m}$
Daleké infračervené záření (FIR)	$\lambda = 15 - 1000\mu\text{m}$
Mikrovlny	$\lambda = 0, 1 - 30\text{cm}$

2.1 Účinky infračerveného záření na látky

2.1.1 Propustnost látek

Dopadá-li záření s intenzitou I_0 [$\text{W}\cdot\text{m}^{-2}$] ze vzduchu nebo z vakua kolmo na plochu tělesa velké tloušťky z látky propustné, pak se část záření s intenzitou I_r [$\text{W}\cdot\text{m}^{-2}$] odrazí. Poměr r [-] intenzity odražené k intenzitě dopadající určuje poměrnou odrazivost látky.

$$r = I_r/I_0 \quad (2.1)$$

Poměr vycházejícího a dopadajícího zářivého toku na prostředí je propustnost. Odrazivost r [-] látky propustné je dána výrazem:

$$r = (n-1/n+1)^2, \quad (2.2)$$

kde n [-] je index lomu. Vzorec platí jak pro případ, že záření prostupuje ze vzduchu do látky, ale i opačně, z látky do vzduchu. Odrazivost látky velmi závisí na jejím indexu lomu. Pokud záření dopadá šikmo na rozhraní, pak odrazivost závisí nejen na indexu lomu, ale taky na úhlu dopadu. [11]

2.1.2 Nejužívanější optické materiály pro infračervený obor

Hlavním materiálem pro výrobu optických členů, jako jsou čočky, hranoly, vstupní okénka a další, je pro obor viditelného světla optické sklo. V infračerveném oboru přicházejí v úvahu hranoly a optické soustavy pouze do vlnové délky zhruba 2 až 2,4 μm , kde toto sklo začíná silně absorbovat. [11]

2.1.3 Protiodrazové vrstvy pro infračervený obor

Aby se snížily ztráty světla odrazem, tak se plochy čoček u fotografických objektivů opatřují protiodrazovými vrstvami. Materiály pro infračervený obor mají velké indexy lomu, a to mnohem větší, než jsou indexy lomu optických skel. Ztráty odrazem jsou na těchto optických členech velmi velké. Protiodrazové vrstvy se využívají, aby se tato ztráta minimalizovala. [11]

Látky absorbující

Při průchodu záření všemi látkami vznikají ještě dva další druhy ztrát záření. Jsou to ztráty absorpcí a rozptylem. Svazek záření je při průchodu látkou postupně pohlcován a část je rozptylována. To znamená, že je odchylována od původního svazku do různých směrů. Zářivý tok se při průchodu látkou postupně zmenšuje. [11]

Látky rozptylující

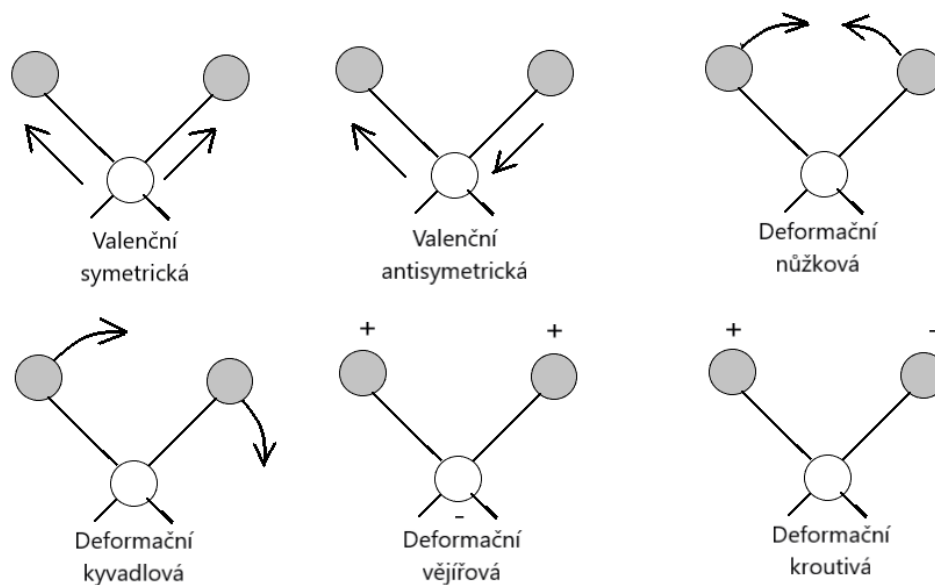
Optické vlastnosti mezi látkami a prostředím rozptylujícím infračervené záření jsou velmi složité. Kalné prostředí je libovolné skupenství s určitým indexem lomu, obsahujícím suspendované částičky s odlišným indexem lomu. [11]

2.2 Typy vibračních přechodů

Energetické přechody rozdělujeme do tří skupin. Nejběžnějšími jsou fundamentální přechody. Jedná se o přechody ze základního vibračního stavu molekuly do prvního excitovaného vibračního stavu. Přechody harmonické se vyskytují méně často. Jsou to přechody ze základního stavu do vyšších vibračních energetických hladin. Při přechodu dochází ke změně vibračního kvantového čísla o více než o jedničku.

Pokud na vibrující molekulu budeme nahlížet z pohledu klasické fyziky, tak můžeme vibrace popisovat jako změny délek či úhlů vazeb. Jestliže se při vibraci mění

především délka vazby, tak mluvíme o vibraci valenční, kterou můžeme dále rozdělit na symetrickou a antisymetrickou. Změnou úhlů se jedná o vibraci deformační, kterou dále rozdělujeme na rovinnou a mimorovinnou. Deformační rovinné vibrace tedy dělíme na nůžkové a kyvadlové. Mimorovinné deformační vibrace rozdělujeme na vějířovité a krouživé. [4][16]



Obrázek 2.1 Znázornění některých vibračních pohybů molekuly z pohledu klasické fyziky. [4]

Na natáhnutí vazby je vždy třeba více energie než na její ohnutí a z toho vyplývá, že frekvence valenčních vibrací jsou vždy vyšší než frekvence odpovídající deformačním vibracím dané funkční skupiny.

Obecně má n atomová molekula $3n$ stupňů volnosti. Tři z nich jsou určeny pro translační pohyb těžiště molekuly ve směru os x , y a z a další tři jsou určeny pro popis jejího rotačního pohybu. Pokud jsou v lineární molekule dva rotační momenty ve směru os x , y a z totožné, pak se jedná pouze o dva. Číslo $3n-6$ tedy zbývá na vibrační stupně volnosti, nebo také nazývané jako vibrační pohyby molekuly. [4][16]

Vliv podmínek experimentu na tvar pásů

Vztah mezi počtem vibračních pásů a vibračními stupni volnosti není jednoduchý. O aktivitě vibračních přechodů a jejich intenzitě rozhoduje symetrie molekuly. Při analýze vibračních spekter se využívá teorie bodových grup. Na základě této analýzy lze rozhodnout, pro které vibrační módy dojde ke změně dipólového momentu nebo polarizovatelnosti molekuly a tím k aktivnímu přechodu. Dále lze rozhodnout, které vibrační módy budou degenerované a které budou neaktivní. [12]

3. PŘÍSTROJOVÉ VYBAVENÍ PRO ANALÝZU POMOCÍ INFRAČERVENÉHO ZÁŘENÍ

3.1 Základní schéma IR spektrometru

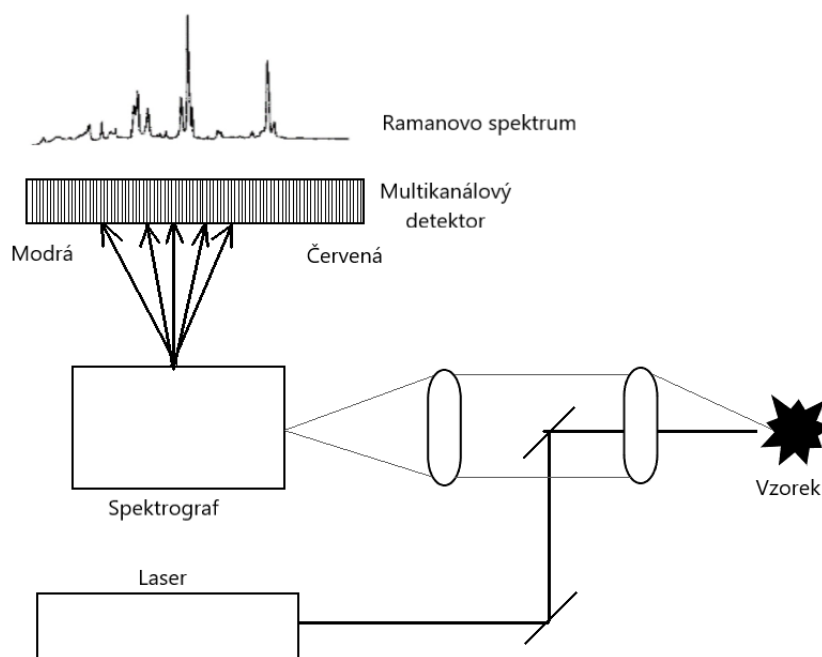
IR spektrometry mají široké využití v laboratořích, ale také se používají jako procesní přístroje. Procesní přístroje a přístroje pro UV/VIS oblast mají podobnou konstrukci. Zjednodušený popis přístroje zahrnuje zdroj záření, kyvetu na zkoumanou látku a detektor. Podle způsobu měření se musí specificky upravit i jednotlivé části přístroje.

Při měření se začíná nejprve proměřením pozadí, kdy je do kyvetového prostoru vložena referenční kyveta a poté se proměří zkoumaný vzorek. Z poměru získaných hodnot při měření pozadí a měření vzorku získáváme hodnotu absorbance, nebo transmitance. Pro měření infračervených spekter se využívají tři typy přístrojů. Jsou to přístroje disperzní, nedisperzní a interferometrické. [4][16]

3.2 Disperzní IR spektrometrie

Je to účinná a rychlá metoda, která vyžaduje jen minimální přípravu vzorku pro analýzu. Technika funguje na principu násobného úplného odrazu záření na fázovém rozhraní měřeného vzorku a měřicího krystalu z materiálu o vysokém indexu lomu. Jedná se o planární krystal lichoběžníkového tvaru. Do krystalu je soustavou čoček přiveden svazek paprsků tak, aby úhel dopadu na fázové rozhraní odpovídal podmínce totálního odrazu. ATR krystal je v těsném kontaktu s měřeným vzorkem a záření částečně proniká do analyzovaného materiálu. Jestliže bude měřený vzorek absorbovat záření o určité frekvenci, pak je tato frekvence v totálně odraženém světle zeslabena. Spektrum získané tímto způsobem se značně podobá spektru změřeném v transmitančním režimu.

Na infračervených disperzních spektrometrech je velmi obtížné měřit vzorky, které výrazně absorbovaly IR. Takováto spektra vzorků jsou velmi nekvalitní a slabé pásy se často ztrácí ve spektrálním šumu. [7][16]

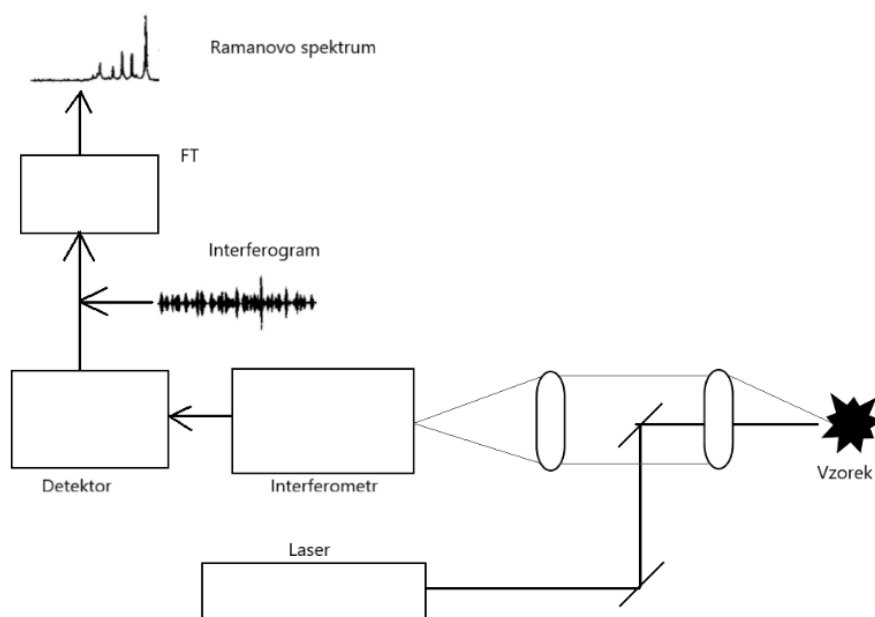


Obrázek 3.1 Schematické znázornění disperzního Ramanova spektra. [28]

3.3 Nedisperzní IR spektroskopie

V současné době jsou aplikovány Ramanova spektra s nedisperzním prvkem používající Fourierovu transformaci, využívající jako spektrometrický prvek interferometr a Ramanova spektra s Multikanálovými detektory nebo především s detektory CCD, využívající disperzní prvek (mřížku, optický hranol, aj.). Disperzní systémy od sebe prostorově separují vybuzené záření o různých vlnových délkách, které pak dopadá na detektor. Nedisperzní systémy modulují frekvenci jednotlivých vlnových délek vybuzeného záření, složený modulovaný signál je zachycen detektorem a ten je dále demodulován Fourierovou transformací.

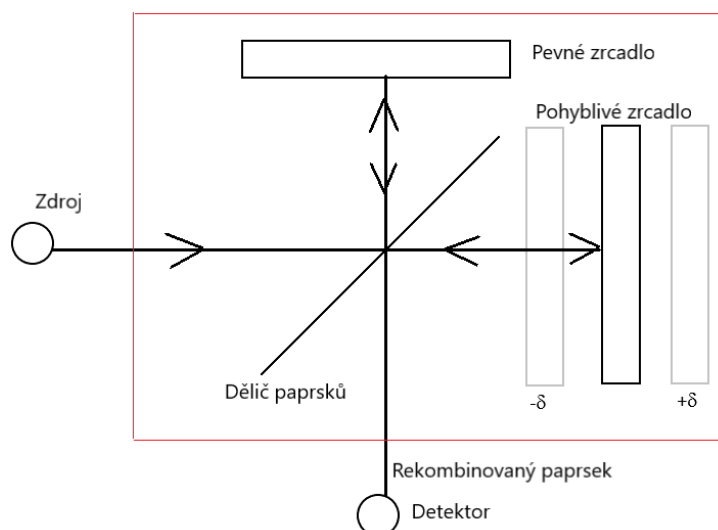
Použití FTIR spektrometrů má oproti disperzním přístrojům několik výhod. V FTIR spektrometrech záření prochází jako celek a není rozkládáno, proto nedochází k energetickým ztrátám, a to umožňuje měřit i silně absorbující vzorky či použít reflexní techniky měření. Další výhodou je kratší doba neměření spektra. Mezi nevýhody patří, že se jedná o jednopaprskové přístroje, které neumožňují současně proměřit měřené vzorky a srovnávací vzorek. Abychom mohli proměřit spektrum, tak je potřeba prvně proměřit prázdný vzorek či slepý pokus a až poté proměřit vzorek. [8][16]



Obrázek 3.2 Schematické znázornění nedisperzního Ramanova spektra. [28]

3.4 Interferometrický IR spektrometr

V interferometrických spektrometrech se jako zdroj záření používá keramická tyčinka, která při zahřátí emituje spojité záření v infračervené oblasti. Oproti disperzním přístrojům spektrometr obsahuje i interferometr. Hlavními součástmi interferometru jsou dělič paprsků, pohyblivé a pevné zrcadlo (obr. 4.3).



Obrázek 3.3 Schéma Michelsonova interferometru [4]

Pro MIR oblast se jako dělič paprsků využívá polopropustné zrcadlo. Na polopropustný dělič paprsků dopadá pod úhlem 45° záření ze zdroje, a tímto děličem s

50% propustností projde paprsek na pohyblivé zrcadlo. K pevnému zrcadlu je odražena zbylá část vstupního záření. Na děliči paprsků dochází ke kombinaci těchto paprsků odražených od zrcadel a dochází ke konstruktivní nebo destruktivní interferenci. Pokud je dráhový rozdíl obou na děliči se vracejících paprsků celistvým násobkem délky λ [m] procházejícího záření, pak dochází ke konstruktivní interferenci.

$$\text{dráhový rozdíl} = n\lambda \quad (4.1)$$

Je-li tato podmínka nesplněna, tak paprsky interferují destruktivně, a to vede k redukci intenzity. Intenzita bude maximální pro dráhový rozdíl, který je roven jedné polovině vlnové délky, nebo jejím celým lichým násobkům. Do kyvetového prostoru je pak odražen tento rekombinovaný paprsek a dále dopadá na detektor. Signál je snímán v závislosti na pohybu zrcadla v interferometru a to od $+\delta$ do $-\delta$ (obr. 4.4). Se změnou typu použitého detektoru závisí časová odezva detektoru a tomu je přizpůsobena rychlost pohybu zrcadla. Signál dopadající na detektor je součtem všech konstruktivních a destruktivních interferencí při všech frekvencích. Veškeré spektrální informace jsou obsaženy v každém zaznamenaném interferogramu. Při každém pohybu zrcadla je získán interferogram, který se následně Fourierovou transformací převádí z časového do frekvenčního nebo z vlnočtového na spektrum odpovídající jednomu skenu. Ze všech interferogramů, které jsou zaznamenávány s opakovaným pohybem zrcadla, je dále spočítán průměrný interferogram a ten se Fourierovou transformací převede na spektrum. Jelikož přístroj pracuje jako jednopaprskový, tak musíme pro zjištění transmitance nejdříve získat vlnočtovou závislost detekovaného signálu pro tok záření dopadajícího na vzorek (to je tzv. pozadí) a poté získat stejnou závislost pro tok prošlý zkoumaným vzorkem. Poměrem těchto hodnot dostaneme spektrum neboli vlnočtovou závislost transmitance nebo absorbance. Nejběžněji se používají pyroelektrické detektory. [4]

4. VYUŽITÍ MIR A RAMANOVY SPEKTROSKOPIE PŘI ANALÝZE POTRAVIN

Výhody spektroskopie pro bakteriální analýzu

Rychlá a přesná detekce, segregace a kvantifikace bakterií v různých matricích, jako jsou potraviny, jsou důležité. Počet hlášených případů nemocí přenášených potravinami a jiných nemocí souvisejících s bakteriemi se za posledních několik let dramaticky snížil díky zlepšení rychlé detekce, stanovení počtu mikrobů a zlepšení epidemiologických schopností ve vyspělých zemích. [9]

Vlastnosti bakterií pomocí infračerveného a Ramanova spektroskopu

Infračervená spektroskopie byla poprvé zavedena ke studiu membránového složení bakterií na počátku desetiletí dvacátého století. Strukturní rysy makromolekul (bílkoviny, lipidy, sacharidy atd.) Spojené s bakteriálními membránami lze pozorovat ve spektrálních oblastech ve MIR oblasti. Pro spektrální analýzu biomolekul však existují určitá omezení. Infračervená absorpce vyžaduje, aby ke změně vnitřního dipólového momentu došlo při molekulárních vibracích; proto mají polární skupiny, jako je C=O, N-H a O-H silné IR roztažné vibrace. Voda je příkladem polární molekuly, která má silnou infračervenou absorpci a interferenci vody s jinými spektrálními rysy lze kompenzovat při zkoumání biologických vzorků. Kromě IR spektroskopie získává stále větší pozornost Ramanova spektroskopie. Raman poskytuje doplňující informace ke konvenční infračervené spektroskopii a spojení těchto technik je často výhodné. Ramanův rozptyl závisí na změnách polarizovatelnosti funkčních skupin při vibracích atomů. Ramanova spektroskopie měří nepružný rozptyl záření monochromatického světla a poskytuje spektrální posun, který je výsledkem interakce světla s elektronovými mračky obklopujícími molekulární vazby. [9]

Studie bakteriálního poškození a inaktivace pomocí vibrační spektroskopie

Bakteriální poškození při různých formách stresů prostředí lze studovat pomocí FT-IR. Různé analýzy segregace ukazují, že polysacharidy byly produkovány bakteriemi, jako odpověď na drsné životní prostředí, a obsah lipidů a proteinů se v mrazu výrazně snížil. [9]

4.1 Využití NeoSpectra NIR spektrofotometrů v hospodářství

4.1.1 Popis přístroje NeoSpectra

Spektroskopie je studium fyzikálních a chemických vlastností materiálů analýzou jejich reakce na světlo. S vědomím, že každá chemická složka má jedinečný spektrální vzor, říká analýza spektrální odezvy látek hodně o jejich chemickém složení a koncentraci.

Existuje mnoho konvenčních topologií pro spektrometrické vybavení, včetně FTIR, které nabízejí několik výkonových a nákladových výhod. Senzory NeoSpectra jsou založeny na polovodičové technologii, která umožňuje výrobu senzorů ve velkém objemu a za nízkou cenu. Přístroje jsou malé, lehké a lze je integrovat do mnoha různých prostředí. Senzory NeoSpectra pokrývají široký spektrální rozsah, což umožňuje analýzu více komponent současně. Nabízejí také nastavitelné rozlišení a dobu skenování, stejně jako pokročilá nastavení, která umožňují optimalizaci výkonu. [10]

4.1.2 Analýza potravin pomocí přístroje Neospectra

Analýza syrového mléka

Tento nástroj musí být přenosný, cenově dostupný a měl by uživatelům umožnit nedestruktivně a v terénu analyzovat jejich cílové vzorky, v případě aplikací na chov mléka by měl být přednostně vložen do dojící stanice. Miniaturizace spektrometrů NIR pokročila do bodu, kdy by ruční přístroje mohly poskytovat spolehlivé a dostupné prostředky k tomuto účelu.

Senzory NeoSpectra lze použít pro analýzu mléka v terénu. To potvrzuje potenciál této technologie umožnit rychlé nedestruktivní testování v terénu a bez nutnosti přípravy vzorků pomocí nízkonákladové technologie, která umožňuje škálovatelné řešení pro kvalifikaci mléka. [10]

Identifikace padělaných textilií

Výzkumy jasně ukazují, že spektra nejběžnějších textilních materiálů měřená spektrálním senzorem NeoSpectra poskytují vhodná a rychle dostupná analytická data pro správnou identifikaci neznámých textilních zkušebních vzorků. Tento nástroj musí být přenosný, cenově dostupný a měl by umožnit uživatelům analyzovat jejich cílové textilie, aniž by zničili jejich produkty.

Vykreslení NIR spekter odpovídajících každému typu koberce může snadno a rychle rozlišit mezi hedvábnými a mercerizovanými vlněnými koberci. Spektrální senzory NeoSpectra lze použít k rozlišení mezi autentickými a padělanými hedvábnými koberci, a to i neoborníky, s jednoduchou vizualizací jejich odpovídajících NIR spekter. [10]

Monitorování obsahu cukru v obilovinách

Vysoká hustota živin snídaňových cereálií (zejména celozrnných nebo s vysokým obsahem vlákniny) z nich dělá důležitý zdroj klíčových živin. Jednotlivci konzumující snídani prokázali lepší celkové výživové profily, zlepšení kognitivních funkcí a je méně pravděpodobné, že budou mít nadváhu. Většina snídaňových cereálií však také přispívá k příjmu cukru. Štítky výživy u některých komerčních produktů nemusí odrážet nejpřesnější informace o obsahu cukru. Vzhledem k množství dat spojujících spotřebu přidaného cukru s rizikem onemocnění je nezbytné určit skutečný obsah cukru.

Spektrální senzory NeoSpectra jsou skvělou potenciální alternativou pro analýzu obsahu cukru v obilovinách a mají mnoho výhod. Protože je miniaturizovaný, levný a lze

jej vyrábět ve velkém množství, mohou jej použít výrobci, kontroloři kvality, zdravotničtí pracovníci, dietologové a dokonce i spotřebitelé k ověření správnosti údajů na nutričním štítku. [10]

Identifikace a kvantifikace půdních živin

V průměru 60% výnosů plodin závisí na úrodnosti půdy. Obnova půdy je obtížný, nákladný a časově náročný proces, je nutné účinné hospodaření s půdou, než dojde k poškození. Správné hospodaření s půdou začíná zkoušením půdy, po kterém následuje aplikace vhodných hnojiv ve správný čas. Aby se zlepšila úrodnost půdy, je třeba nejprve určit skutečný stav úrodnosti půdy. I když jsou viditelné vlastnosti, jako je struktura, barva a struktura, není možné vidět chemické složení půdy.

Spektrální senzor NeoSpectra je schopen poskytnout informace o struktuře půdy, organický uhlík půdy, pH, kapacitu kationtové výměny, celkový dusík, celkový fosfor a vyměnitelný draslík. [10]

Analýza Sójových bobů

Senzory NeoSpectra poskytují rychlý a nákladově efektivní screeningový nástroj pro identifikaci vysoceolejové sóji z konvenčních odrůd. Zařízení NIR mají potenciál být použity pro rychlou, praktickou a jednoduchou metodu k identifikaci různých odrůd sóji a screeningu konkrétních vlastností. NIR umožňuje rychlou fenotypizaci vysokého obsahu oleje v sóji bez rozsáhlého zpracování vzorků nebo použití chemikálií a rozpouštědel. Přesné a robustní předpovědi metodou NIR mohou umožnit efektivní výběr odrůd sóji s požadovaným složením mastných kyselin, což podporuje jejich aplikace od chovatelů k farmářům, kteří mohou získat pobídky pro sójové boby s přidanou hodnotou a potenciálně zavést ceny sóji založené na složkách. [10]

Identifikace ryb

Změna životního stylu a preferencí spotřebitelů, zvýšení příjmů, zvýšení povědomí o zdravotních výhodách spojených s mořskými plody a rozsáhlá dostupnost různých druhů ryb podpořily růst globálního trhu s mořskými plody. Vyčerpání populací volně žijících ryb však brání růstu trhu a v marketingu mořských plodů nastávají další problémy, protože produkty z mořských plodů jsou úmyslně nebo náhodně nesprávně označeny v řetězci těžby a zpracování nebo proto, že obchodníci s potravinami nebo restaurátoři nahrazují jeden druh jiným.

Studie dokázala jasně prokázat, že na základě difúzních odrazových spekter založených na NIR jak filetů, tak celých ryb může jednotlivec nebo tým použít senzor Neospectra ke správné identifikaci druhů podobně vypadajících ryb. Stejně významné, neznámé ryby ve dvou třídách ve studii mohly být přesně přiřazeny do správné třídy pomocí analýzy SIMCA. [10]

5. ANALYTICKÉ METODY VYUŽÍVANÉ PŘI ANALÝZÁCH IR SPEKTER

Multivariační metody slouží pro statickou analýzu vícerozměrných dat. Vícerozměrnou statickou analýzou se snažíme popsat vztahy mezi proměnnými. Složitost úlohy roste s rostoucím počtem proměnných. Přítomnost daných látek ve zkoumaném vzorku se určuje kvalitativní analýzou. Vyhodnocení probíhá formou porovnání výsledného spektra s knihovnou spekter. Množství látek ve zkoumaném vzorku se zjišťuje kvantitativní analýzou. [16]

Diskriminační analýza

Je to statistická metoda, která nám umožňuje studovat odlišnosti mezi dvěma nebo více skupinami objektů s ohledem na více proměnných současně. Patří mezi metody založené na zkoumání závislosti mezi skupinou nezávisle proměnných, nazvaných diskriminátory, tj. sloupců zdrojové matice na jedné straně a jednou kvalitativní závisle proměnou na druhé straně. Výstupem pro dvě třídy je v nejjednodušším případě binární proměnná a umožňuje zařazení objektů do jedné z již existujících tříd. Jsou dány nezařazené objekty, pro které jsou hledány zařazení do tříd. Objekt řadíme do třídy na základě jeho největší míry podobnosti. [18]

Kvalitativní analýza

V kvalitativních analýzách jsou využívány databanky, které obsahují informace, jaké vazby a na kterých vlnových délkách záření mají největší absorpční. V absorpčním spektru se na dané vlnové délce vyskytuje peak. Tyto tzv. funkční skupiny následně vyhledáváme v celkovém spektru zkoumané látky. Existují softwary, které tuto analýzu provádějí. [19]

5.1 Analýza hlavních komponent

Analýza hlavních komponent (PCA) je statistická metoda, která zkoumá možnost redukce počtu proměnných pomocí hlavních komponent. Základní myšlenkou PCA je transformace původních korelovaných příznaků na nové nekorelované příznaky se zachováním původních informací podstatných pro efektivní učení modelu. Osy nového souřadnicového systému jsou tvořeny hlavními komponentami (PC). Velikost rozptylu hodnot na nových osách je dána velikostí korelací proměnných mezi sebou. PC popisují variabilitu všech proměnných a vztahy mezi nimi. Vznikají jako kombinace původních proměnných. Jestliže všechny proměnné korelují s hodnotou blízkou jedné v absolutní hodnotě, pak je možné celkový rozptyl zachytit jen jednou hlavní komponentou. Pokud jsou však všechny korelace malé, pak potřebujeme k zachycení celkového rozptylu tolik PC, kolik je původních proměnných. V tom případě PC odpovídají původním

proměnným a každá komponenta nám popisuje variabilitu jedné proměnné. Zkoumání hodnot nových proměnných místo původních hodnot proměnných nám umožňuje snadněji porozumět datům. [14][17][23]

5.2 Hierarchická shluková analýza

Mezi různými metodami používanými při shlukové analýze se obecně používá Wardův algoritmus společně s euklidiánskými vzdálenostmi ke konstrukci dendrogramů, což nám dává jednu z nejlepších předpovědí rozložení dat. Využívá se rozptyl jako suma čtverců vzdáleností objektů od centroidů jejich shluků. Centroid (střed) shluku je průměr objektů z daného shluku. Jako výsledek shlukování se používá dendrogram. Dendrogram je vývojový strom, který nám umožňuje snadnou orientaci ve vzájemných podobnostech či odlišnostech objektů. Wardova shlukovací metoda je založena na minimálnímu rozptylu. Shluky jsou vytvářeny tak aby nově vzniklý shluk přispíval co nejméně k celkovému rozptylu ve shlucích (tj. aby se ve shlucích objevovaly jen co nejvíc podobné objekty). Na rozdíl od jiných metod se Wardův algoritmus pokouší najít co nejhomogennější skupiny. [3][23]

5.3 Neuronové sítě

Neuronové sítě jsou jednou z oblastí umělé inteligence a mají řadu zajímavých vlastností. Mezi tyto vlastnosti patří schopnost učit se, aby lépe vyhovovala zadaným požadavkům. Tyto sítě musí mít zavedenou zpětnou vazbu, která bude určovat chybu výstupu a podle se pak mění parametry. Neuronové sítě dělíme do tří skupin: asociativní paměti, klasifikátory a aproximátory. Klasifikátory pracují na principu rozpoznání vstupního vzoru a následného zařazení do vybrané třídy. Klasifikátory mají tedy za úkol zařadit vzor na základě podobnosti. Zástupcem takovéto sítě je např. Hammingova síť. Síť využívá Hammingovy metriky pro zjištění vzdálenosti testovaného vektoru od jednotlivých tříd. Poté je testovaný vektor zařazen do třídy s nejmenší vzdáleností. [30]

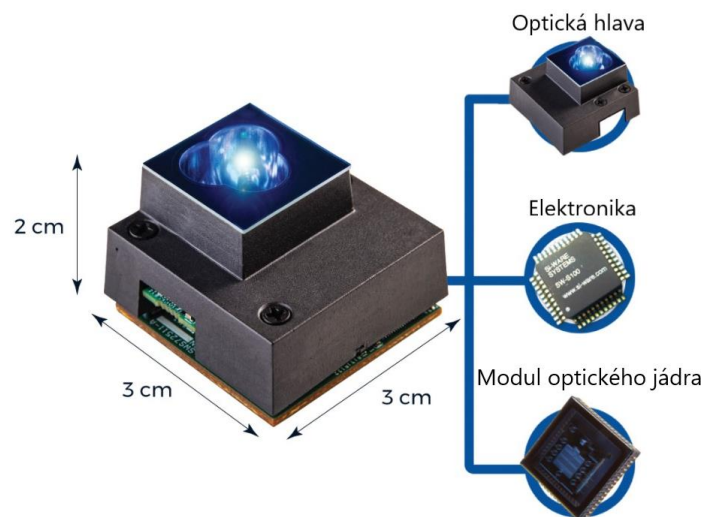
6. PRAKTICKÁ ČÁST

6.1 Popis přístroje

V praktické části pracuji s přístrojem NeoSpectra-Micro. Pomocí tohoto přístroje měřím svoji vybranou sadu vzorků potravin. Z přístroje jsem získal data naměřených spekter absorbance na vlnové délce. Tyto data následně upravuji do vhodné formy pro analýzu a vyhodnocení podobnosti. Abych zjistil, jak se dají pomocí NIR spektrometru analyzovat vizuálně podobné vzorky.

6.1.1 NeoSpectra-Micro

Díky polovodičovému průmyslu se na čip podařilo integrovat funkce. Tyto čipy jsou zároveň velmi levné, což nabízí mnoho způsobů využití. Existuje mnoho konvenčních topologií pro spektrometrické vybavení, včetně Fourier Transform InfraRed (FT-IR), které nabízejí několik výkonových a nákladových výhod. [10]



Obrázek 6.1 Přístroj NeoSpectra [10]

Optická hlava

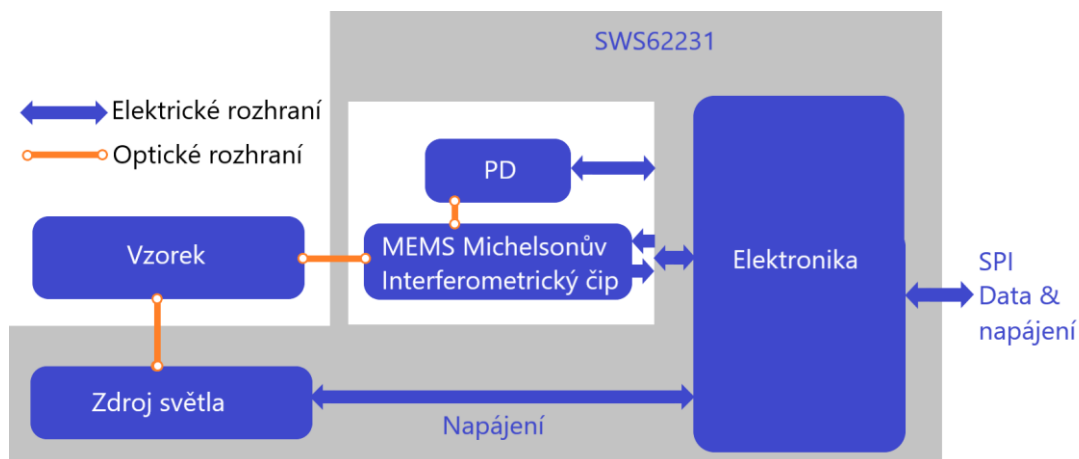
- Světelné zdroje pro osvětlení vzorku
- Sběrka rozptýleného odraženého světla

Elektronika

- Integrované okruhy specifické pro aplikaci pro řízení systému a zpracování dat
- proprietární design pro optimalizaci výkonu
- Snižuje množství externích komponent

Modul optického jádra

- Monolitický MEMS Michelsonův interferometr
- Jeden nechlazený fotodetektor InGaAs [10]

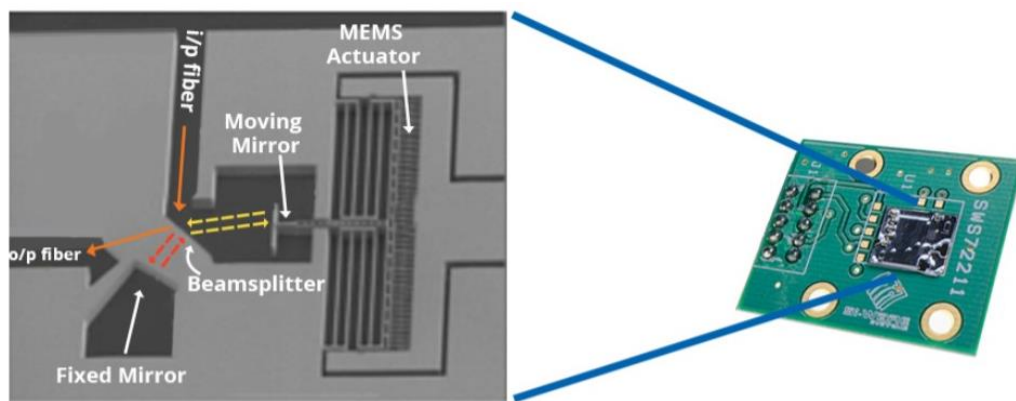


Obrázek 6.2 Blokové schéma Michelsonova interferometru [10]

MEMS

Micro Electro Mechanical Systems jsou čipové elektromechanické prvky, které jsou vyvíjeny technikami polovodičových technologií mikrofabrikace. Elektromechanické vzory jsou nejprve vytištěny na maskách, tyto masky se používají k vytváření vzorů na silikonových destičkách fotolitografií, vzory se poté leptají pomocí dávkového zpracování. Nakonec se čipy nakrájejí na kostičky a zabalí. Během posledních desetiletí způsobily čipy MEMS revoluci v několika průmyslových odvětvích natolik, že dnes lze čipy MEMS nalézt v mnoha elektronických zařízeních. [10]

V systému NeoSpectra jsou všechny optické a mechanické součásti integrovány do jediného čipu MEMS, což umožňuje funkčnost FT-IR v měřítku čipu. Monolitická integrace je umožněna použitím patentované platformy Si-Wire Systems Micro-Optical Systems Technology (SiMOST) [10]



Obrázek 6.3 Monolitický Michelsonův interferometrický čip využívající SiMOST [10]

NeoSpectra jádrový motor obsahuje jednočipový Michelsonův interferometr s monolitickou opto-elektro-mechanickou strukturou. Komponenty jsou litografií vnitřně vyrovnány. Měření polohy pohyblivého zrcadla je způsobeno elektrickým snímáním kapacity na čipu mezi budičem motoru a pevnou strukturou. [10]

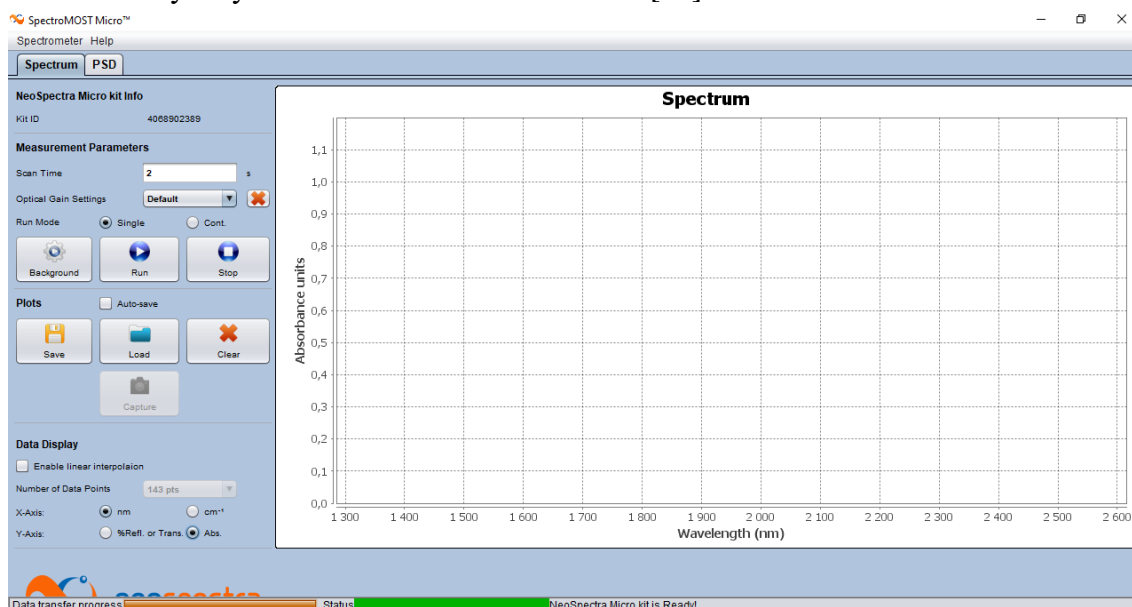
Tabulka 6.1 Technické specifikace přístroje NeoSpectra[10]

Parametr	Podmínky	Hodnota	Jednotka
Spektrální rozsah	PSD $\ast >$ Max. PSD/10	1350-2500	nm
Řešení	Při $\lambda = 1550\text{nm}$ kritérium FWHM	16	nm
Typická SNR (rms)	Doba sekvenování 2s; @ $\lambda = 2050\text{nm}$	2000:1	-
Teplota	Úkon	-5 až 40	°C
Přesnost vlnové délky	@ $X = 1400\text{nm}$; teplota $< 40^\circ\text{C}$	$\pm 1,5$	nm
Opakovatelnost vlnové délky	@ $X = 1400\text{nm}$; úroveň absorbance = 0,5AU	$\pm 0,1$	nm

Přístroj NeoSpectra měří ve vlnové délce 1350-2500 nm, jak je uvedeno v tabulce 6.1. Tento interval je využit při všech měřeních v mé práci.

6.1.2 Software SpectroMOST_Micro

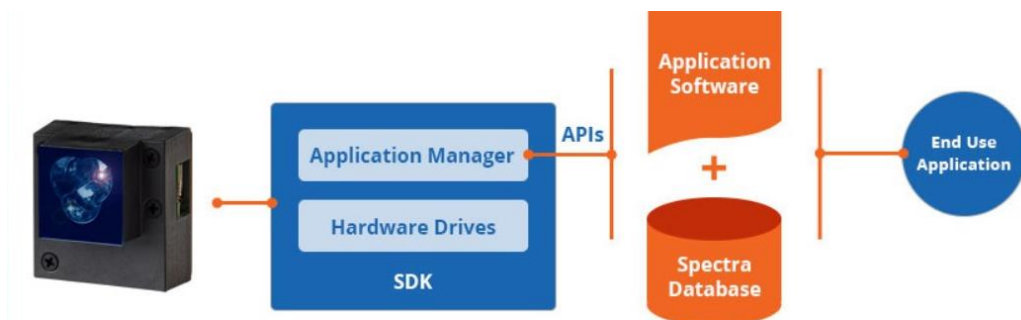
SpectroMOST je softwarové grafické uživatelské rozhraní používané senzory NeoSpectra. Umožňuje vykreslování, ukládání a načítání naměřených spekter. Lze nastavovat některé parametry pro senzory NeoSpectra. Vše, co potřebujete, je počítač s nainstalovaným systémem Windows nebo Linux. [10]



Obrázek 6.4 Uživatelské prostředí Softwaru SpectroMOST_Micro

Software Development Kit

SDK je sada aplikačních programovacích rozhraní (API), která se používají k interakci se senzory NeoSpectra. Sada SDK obsahuje ovladače hardwaru a také sadu rozhraní API, která řídí a komunikuje se senzory. SDK umožňuje vývoj jedinečného aplikačního softwaru. [10]



Obrázek 6.5 Schéma pro Software Development Kit [10]

Pomocí přístroje můžeme měřit spektrum zvolené látky, nebo výkonovou spektrální hustotu. V levé části programu lze volit mezi absorbancí, nebo reflektancí/transmitancí závislé na vlnové délce, nebo na vlnočísle. V softwaru si nastavujeme dobu osvitu vzorku. Na začátku měření musíme proměřit pozadí pomocí tlačítka Background. Dále je tu tlačítko pro Start, Stop a tlačítka k uložení a nahrání získaných spekter. Volíme mezi dvěma režimy snímání. V prvním režimu buďto můžeme změřit spektrum a vykreslit na obrazovce, nebo spektrum získáme a vykreslíme více spekter přes sebe do jednoho grafu. Ve druhém režimu spektra získáváme online a spektrometr opakuje měření každé 3 sekundy a naměřená data přepisuje.

6.1.3 Spektralon

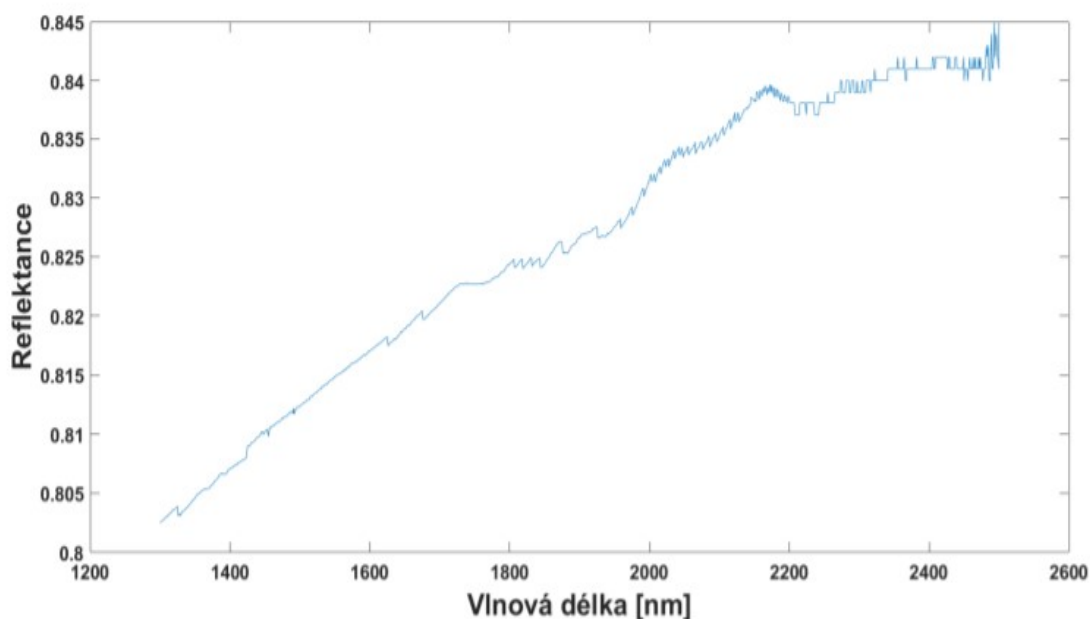
Spektralon je to materiál vyrobený ze slinutého PTFE. Má vysokou a rovnoměrnou odrazivost jak v UV, tak ve VIS a NIR elektromagnetickém spektru. Používá se jako odrazový standard v kalibračních vzorcích. Znečištění materiálu je obtížné odstranit, proto je potřeba s materiálem zacházet s maximální péčí. Menší nečistoty nebo škrábance na povrchu lze odstranit pískem pod proudem vody. Reflexní vlastnosti lze do značné míry obnovit. [31]



Obrázek 6.6 Spektralon Labshere Reflectance Standart

Před měřením je vždy potřeba proměřit pozadí. Z tohoto proměření přístroj následně vypočítá skutečnou absorbanci. Byl zvolen spektralon od firmy Labshere, model SRS-

75-020 Reflectance Standard (Obrázek 7.6). Reflektance tohoto typu spektralonu je znázorněna v Obrázku 8.7 a pohybuje se mezi 80-85 %. [31]



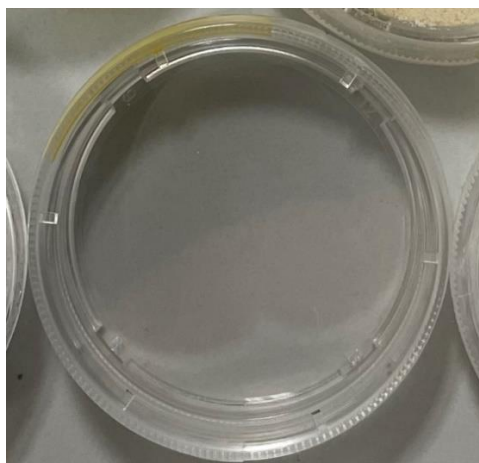
Obrázek 6.7 Závislost reflektance spektralonu na vlnové délce [31]

6.1.4 Kyvety

Abychom mohli měřit se spektrometrem, tak je ve většině případů potřeba nádoba na vzorek. Používají se kyvety, do kterých lze vložit i kapalný vzorek. Nejčastěji se používají standardní kyvety s optickou dráhou 1 cm. Kyvety se vyrábějí z různých materiálů a mohou mít různé provedení.

Skleněné misky

Jako první nádobu jsem použil skleněné misky, do kterých jsem vložil zkoumané látky.



Obrázek 6.8 Snímek skleněné misky

Na obrázku 7.8 je skleněná miska, kterou jsem při měření používal jako kyvetu, abych mohl naměřit spektra vzorků. Tloušťka této misky byla asi 1 cm.

Rychlouzavíratelné ZIP sáčky

Jako druhou nádobu jsem vybral rychlouzavíratelné ZIP sáčky (Obrázek 7.8). Ty jsou vyráběny z polyethylenu. Sáčky mají velmi dobrou odolnost a jsou velmi pružné. Mezi hlavní výhody patří průhlednost a možnost mnohonásobného otevření a utěsnění obsahu díky zipu.



Obrázek 6.9 Snímek rychlouzavíratelných ZIP sáčků

6.1 Popis používaných látek

K testování požívám vzorky již nasnímané a k tomu jsem naměřil další mnou vybrané látky, které se mi zdály jako nejvhodnější pro testování a následnou diskusi. Jsou to látky běžně používané jako doplňková výživa. Ve většině případů se jedná o aminokyseliny.

Tabulka 6.2 Tabulka použitých látek

Data k síti 1	Data k síti 2	Název	Příchuť	Sacharidy	Výrobce
AAKG2	AAKG	Arginin	Čistý	Ne	GymBeam
amino2	amino	Pro Amino	Zelené jablko	Ano	GymBeam
BCAA2	BCAA	BCAA	Čistý	Ne	GymBeam
burn2	burn	Black Burn	Limetka	Ano	GymBeam
carnitine2	carnitine	Karnitin	Čistý	Ne	MyProtein
creatine2	creatine	Kreatin	Čistý	Ne	MyProtein
cukr	---	Cukr	---	Ano	---
glutamine2	glutamine	Glutamin	Čistý	Ne	MyProtein
green2	green	Bio Green Mix	Čistý	Ne	GymBeam
kava1	---	Káva	---	---	Arabica
mouka1	---	Mouka	---	---	Nomix
paprika2	paprika	Paprika	Čistý	---	---
protein2	protein	Protein	Mango	Ano	MyProtein
sul	---	Sůl	---	---	---

V tabulce 7.2 jsou popsány používané vzorky ve dvou sítích, a to podle klasifikace látek v kyvetě a ZIP sáčkích. Je zde uveden používaný pracovní název pro algoritmus, název výrobku, příchut' výrobku, výrobce a zda výrobek obsahuje sacharidy, a to z důvodu přidání cukrů do výrobku. To následně ovlivňuje podobnosti mezi absorbancí.



Obrázek 6.10 Měřené vzorky ve skleněných miskách a ZIP sáčkích

Na Obrázku 7.10 jsou měřené vzorky, které již jsou uloženy v nádobách připravených na měření. Jako velký rozdíl můžeme vidět odlišnou tloušťku kyvet. To hraje roli při měření spekter.

Arginin

Arginin (AAKG) je prekurzor pro syntézu oxidu dusnatého, ten se vyskytuje v makrofázích. AAKG je aminokyselina arginin, který je stavební obsažen ve stavebním bloku bílkovin. Způsobuje vyšší produkci oxidu dusnatého, to způsobuje rozšíření krevních cév. Výhodou této aminokyseliny je podpora vylučování růstového hormonu a zabránění růstu nádorových buněk. [32]

Pro Amino

Pro Amino je mix nejdůležitějších aminokyselin s umělými sladidly. Obsahuje aminokyseliny BCAA v poměru 4:1:1, které si lidský organismus nedokáže vytvořit sám. Výrobek dále obsahuje glutamin, taurin, citrulin, alanin, arginin a beta-alanin. Pro Amino je obohaceno o kofein, extrakt ze zelené kávy a zeleného čaje. Produkt je navíc doplněn o vitamíny C, B3, B6, B9, B12 a D3. [39]

Aminokyseliny

Aminokyseliny jsou základní stavební jednotkou při tvorbě bílkovin. Přirozeně vyskytujících aminokyselin je 22, ty se nadále dělí na esenciální a neesenciální. Esenciální si tělo nedokáže vytvořit samo, a proto je přijímá ze stravy. Neesenciální se

vytvářejí v játrech z přijatých bílkovin. Aminokyseliny jsou v bílkovině vázány pomocí peptidové vazby. [32]

BCAA

BCAA (branched-chain amino acids) nebo také větvené aminokyseliny je označení aminokyselin L-Isoleucinu, L-Leucinu a L-Valinu. Tyto aminokyseliny se mohou vyrábět synteticky nebo mohou být získány z přírodních zdrojů pomocí metody fermentace. Leucin, isoleucin a valin sdílejí první dva katabolické enzymy - aminotransferázu s rozvětveným řetězcem (BCAT) a ketoaciddehydrogenázu s rozvětveným řetězcem. Obě izoformy BCAT používají kofaktory vitamínu B-6 jako dočasné akceptory α -aminoskupiny během procesu aminace α -ketoglutarátu, který se stává glutamátem. Deaminované BCAA jsou známy jako BCKA a lze je znovu aktivovat do jejich BCAA formy. Další krok v katabolismu BCAA, dekarboxylace BCKA, je nevratný. BCAA brání rozpadu bílkovin, zvyšují proteinovou syntézu a podporují hormonální rovnováhu. [32][33]

Black Burn

Black Burn Micronized KT3X Blend obsahuje extrakt z maliny, extrakt z Camellia sinensis, Garcinia Cambogia, Indiánské maté, Cholin bitartrát, Guarana, Capsicum annum, sibiřský ženšen, vitamin B12, kofein. [40]

Karnitin

Aminokyselina L-Karnitin a její bioaktivní forma Acetyl-L-Karnitin se v těle tvoří z aminokyselin metioninu a lysinu. L-Karnitin přenáší mastné kyseliny do mitochondrií. Je to esenciální výživou v určitých životních fázích. [32]

Kreatin

Kreatin (N-(aminoiminomethyl)-N-methyl-glycin) je látka tělu vlastní, která se vyskytuje v potravinách jako je třeba maso. V organismu se vytváří z aminokyselin AAKG, metioninu a glycinu. V těle se nachází z velké části v kosterním svalstvu. Kreatin monohydrát má terapeutické využití, napomáhá k léčbě nervosvalových poruch a zpomaluje nástup některých neurodegenerativních chorob. [32]

Cukr

Cukr je přírodní sladidlo odborně označované jako potravinářský cukr. Stolní cukr, granulovaný cukr nebo běžný cukr označuje sacharózu, disacharid složený z α -D-glukózy a β -D-fruktózy, spojených α -(1 \leftrightarrow 2)- β -glykosidovou vazbou. [36]

Sacharidy

Sacharidy patří mezi nejrozšířenější organické sloučeniny, které se vyskytují na zemi. Molekuly sacharidů jsou tvořeny atomy uhlíku, kyslíku, vodíku. Mají řadu významných funkcí v živých organismech. Mezi funkce patří, že slouží jako zdroj energie, dále jsou důležitou strukturní složkou a významná je i jejich rozlišovací funkce. Z chemického hlediska jsou definovány jako polyhydroxyaldehydy a polyhydroxyketony a jejich

deriváty. V molekule jsou obsaženy funkční aldehydové nebo ketoskupiny a větší počet hydroxylových skupin. Sacharidy se dělí podle počtu jednotek v molekule do tří skupin. Rozlišujeme monosacharidy, oligosacharidy a polysacharidy. Monosacharidy nemohou být hydrolyzovány na jednodušší jednotky a jsou základní stavební jednotkou oligosacharidů a polysacharidů. Oligosacharidy vznikají glykosidovou vazbou 2-10 monosacharidových podjednotek. Polysacharidy jsou tvořeny více než 10 monosacharidovými podjednotkami. [15][24]

Glutamine

Glutamin se řadí mezi neesenciální aminokyseliny, ale během určitých metabolických podmínek se stává podmíněně esenciální. Podporuje imunitní systém, zvládání stresu a obnovuje psychické schopnosti po operaci. [32]

Bio Green Mix

BIO Green Mix je směs jedenácti superpotravin. Je rychlým zdrojem důležitých vitamínů, minerálů a antioxidantů pro podporu zdraví. BIO Green Mix obsahuje zelený ječmen, mladá pšenice, spirulina, chlorela, matcha, camu Camu, moringa, zázvor, máta, baobab a špenát. [41]

Káva

Složení kávy závisí zejména na původu, druhu a způsobu pražení kávy. Nejdůležitějšími látkami kávy jsou: kofein (0,5-2,6 %), kyseliny kávová a chinová (10%), kyselina chlorogenová (4-6%), polysacharidy (25-30%), bílkoviny (13%), tuky a vosky (0,1-0,8%), voda (10-13%), minerální látky (4%), zejména draslík, hořčík, vápník, fosfor, mangan a železo, minoritně byly kávě stanoveny i vitamíny a vláknina [29]

Kofein

Kofein (1,3,7-trimethylxanthin) je purinový alkaloid, který se přirozeně vyskytuje v kávových zrnech. Kofein je nejrozšířeněji konzumovaná farmakologicky aktivní látka na světě. Kofein je dusíkatá heterocyklická sloučenina, derivát xanthinu a to 1, 3, 7 – trimethylxanthinu. Čistý kofein je bílý, hebký prášek nebo tvoří lesklé jehličky, hořké chuti. Kofein je doprovázen i příbuznými alkaloidy teobrominem a teofilinem. Ty jsou však zastoupeny v mnohem menším množství než kofein. [21][22]

Mouka

Mouka obsahuje vysoký podíl škrobů, které jsou podmnožinou komplexních sacharidů známých také jako polysacharidy. Čím vyšší je obsah bílkovin, tím je mouka tvrdší a silnější. Čím nižší je bílkovina, tím měkčí je mouka. [38]

Paprika

Paprika (*Capsicum annuum* L.) je široce používaná přírodní potravinářská barva a chuť. Přítomnost kapsaicinoidů v plodech štiplavých odrůd učinila z papriky důležitou surovinu i ve farmaceutickém průmyslu. V dnešní době je kladen důraz na zdravé potraviny, které obsahují značné množství bioaktivních živin, jako jsou životně důležité

karotenoidy a antioxidační vitamíny. Bez ohledu na nízkou denní spotřebu jsou výrobky z papriky kvůli vysokému obsahu bioaktivních sloučenin považovány za důležité zdravé potraviny nebo složky potravin. Paprika obsahuje antioxidanty, jako jsou vitamíny C a E. [35]

Protein

Bílkoviny, jiným názvem proteiny, jsou makromolekulární látky složené z mnoha aminokyselin spojených peptidovou vazbou do dlouhých polypeptidových řetězců. Jejich molekuly jsou složené z uhlíku, vodíku, kyslíku, dusíku a někdy i síry. Bílkoviny jsou ze všech organických látek v tělesných tkáních zastoupeny v největším množství. Získáváte je jen prostřednictvím stravy a neukládají se do zásoby. Proteiny potřebujeme při tvorbě svalové hmoty. Mezi biologické funkce bílkovin patří stavební, katalytické, regulační, obranné, transportní a zásobní. V přírodě se nachází 20 základních aminokyselin, které se různým způsobem kombinují a tvoří tak různé druhy bílkovin potřebných pro lidské tělo. Mezi základní aminokyseliny patří alanin, valin, glycin, leucin, izoleucin, asparagin, kyselina asparagová, kyselina glutamová, glutamin, arginin, lysin, fenylalanin, histidin, serin, tyrozin, threonin, tryptofan, methionin, cystein a prolin. Struktura bílkovin se rozlišuje do čtyř úrovní, které označujeme jako primární, sekundární, terciální a kvartérní. [15][25][26]

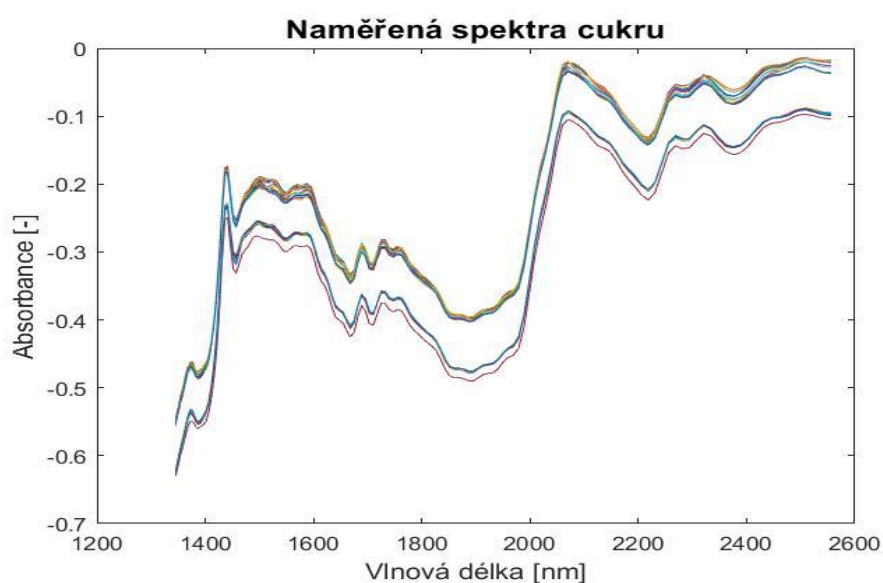
Sůl

Chlorid sodný běžně známý jako sůl, je iontová sloučenina s chemickým vzorcem chloridu sodného (NaCl), což představuje 1: 1 poměr sodíkových a chloridových iontů. Chlorid sodný je sůl nejvíce zodpovědná za slanost z mořské vody a extracelulární tekutiny mnohých mnohobuněčných organismů. [37]

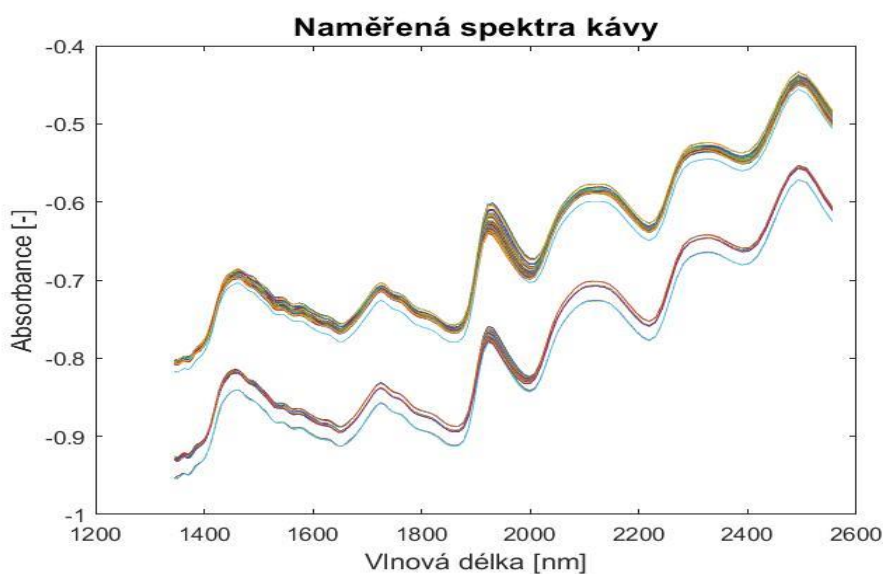
7. NAMĚŘENÁ DATA A DISKUSE VÝSLEDKŮ

7.1 Předzpracování a porovnání naměřených spekter

Při analýze spekter je velmi důležité předzpracování dat. Vizuální kontrola odhalila posunutou základní linii (Obrázek 7.1) a posunuté vzdálenosti spekter (Obrázek 7.2), způsobené posunem kyvet. Naměřená data by se měla upravovat co nejméně, a to kvůli vytvoření artefaktů v datech.

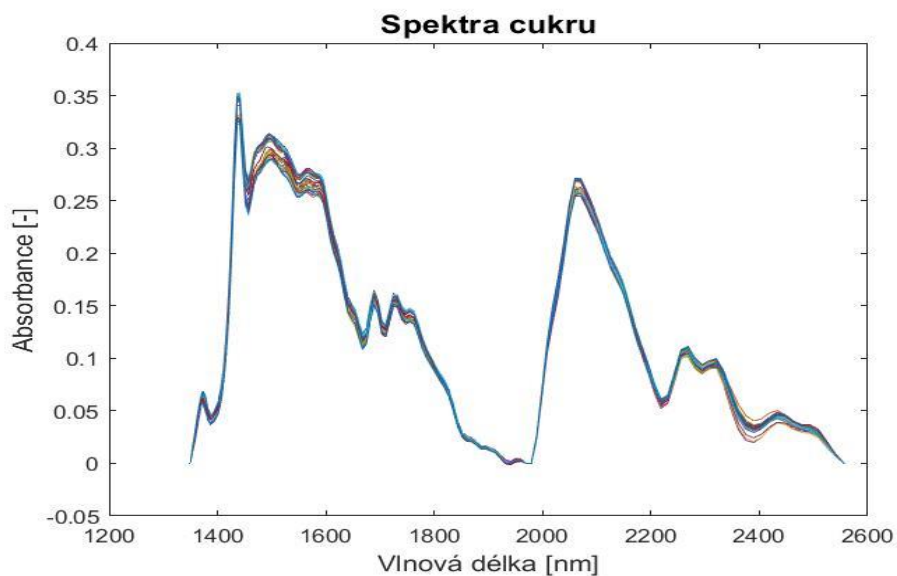


Obrázek 7.1 Padesát naměřených spekter cukru.

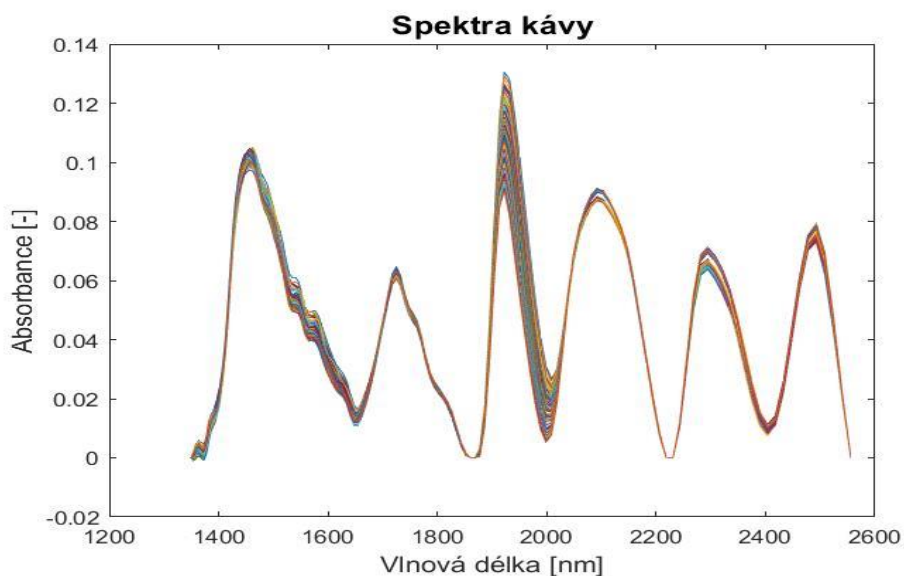


Obrázek 7.2 Sto naměřených spekter kávy.

Abychom dostali co nejpřesnější obraz skutečného spektra dané látky, tak je potřeba vyrovnat izolinii. Prvním krokem je zprůměrování spekter. Dále je potřeba najít nejnižší místa mezi píky. Pomocí nalezených minim lze provést korekce základní linie (Obrázek 7.3).

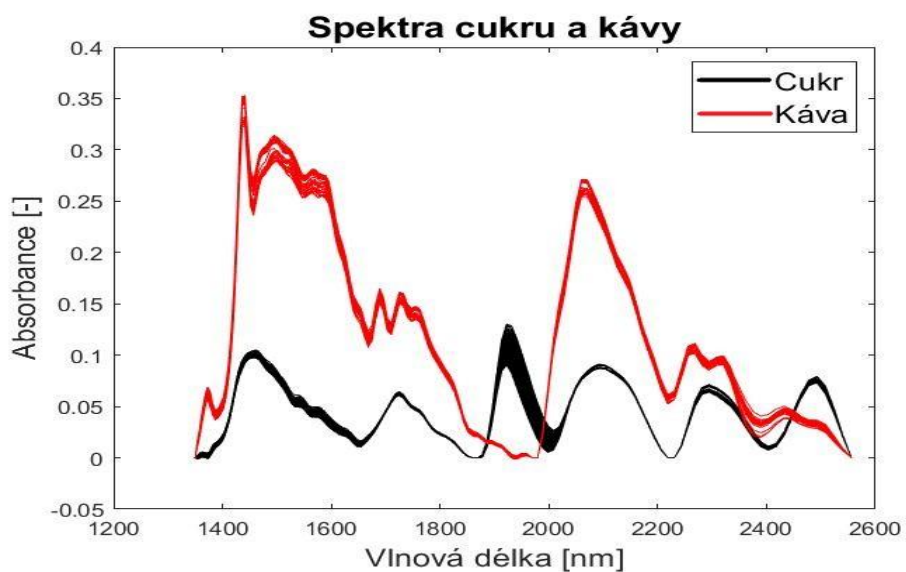


Obrázek 7.3 Předzpracovaná spektra cukru.



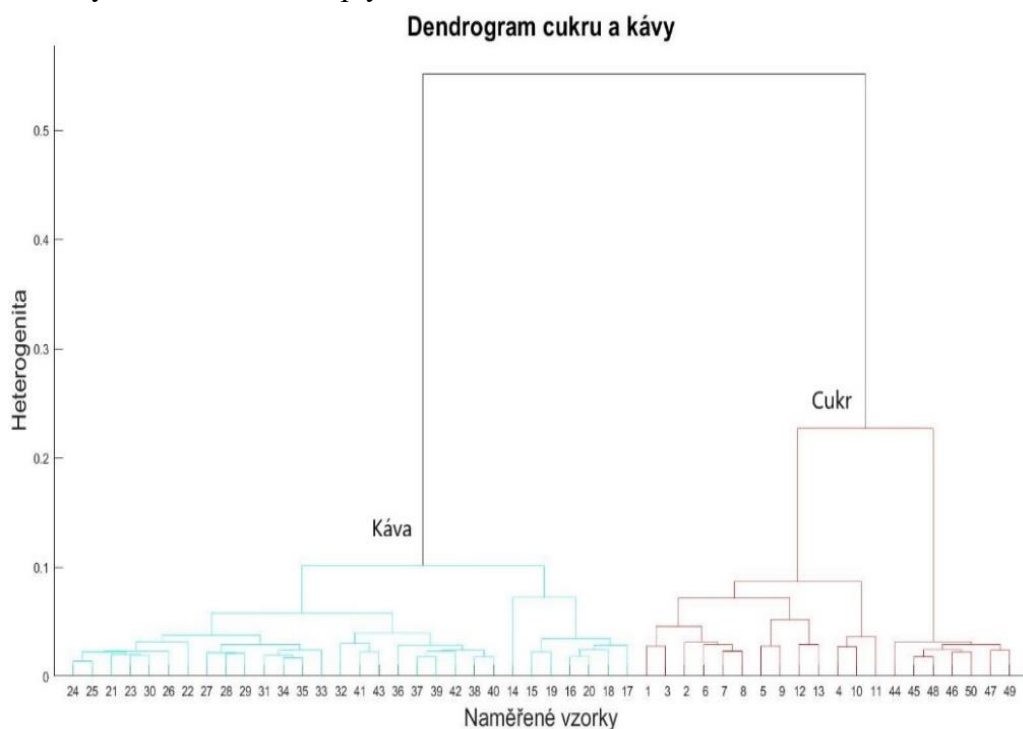
Obrázek 7.4 Předzpracovaná spektra kávy.

Pokud porovnáme spektrum cukru a kávy (Obrázek 7.5), tak můžeme vizuálně usoudit, že jde o dvě odlišné látky s různou molekulární strukturou. Tyto dvě látky absorbují IR o různých vlnových délkách.



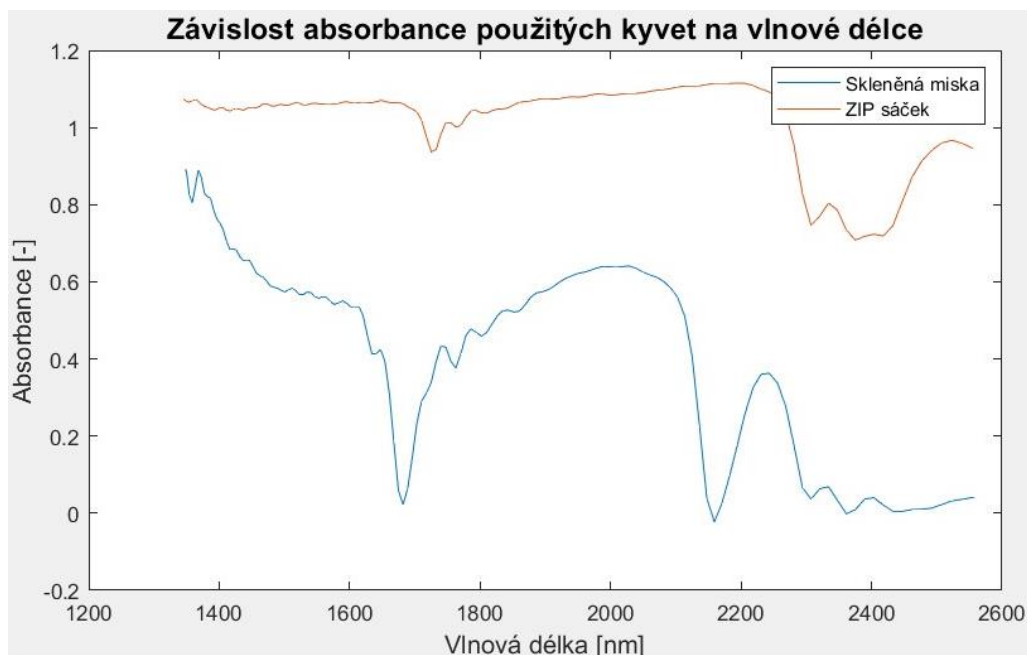
Obrázek 7.5 Porovnání spekter cukru a kávy.

K vyhodnocení odlišností získaných dat jsem využil HCA. K vytvoření shluků byl využit Wardův algoritmus společně s euklidiánskými vzdálenostmi. Toto nastavení tvoří shluky s minimálním rozptylem.



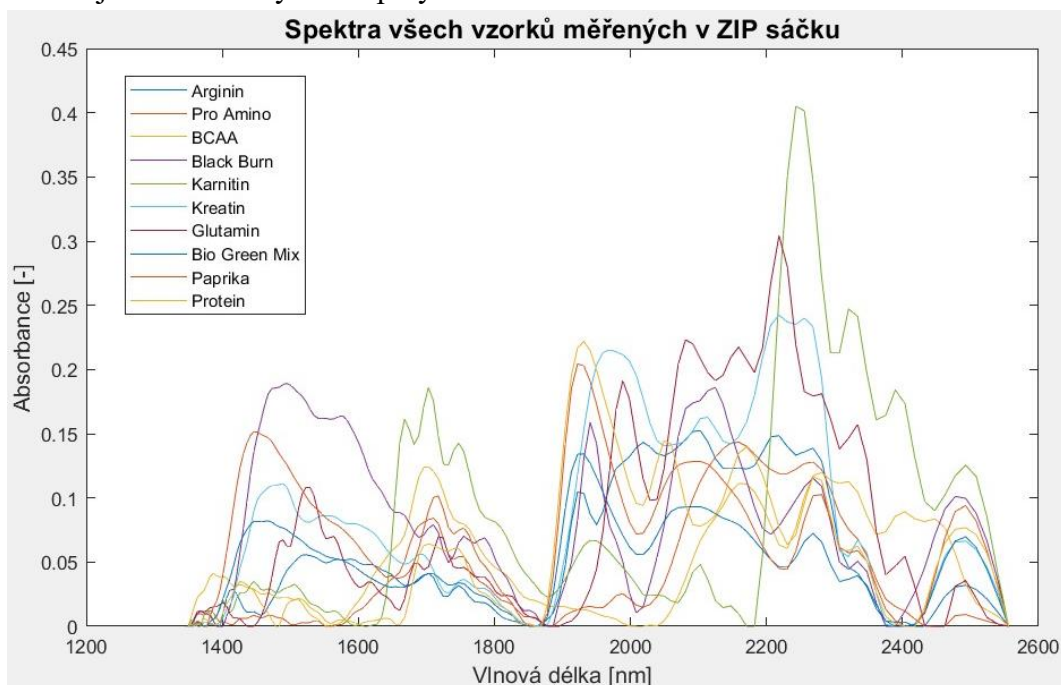
Obrázek 7.6 Dendrogram vzorků cukru a kávy

Hierarchická shluková analýza nám tvoří dva dobře separovatelné shluky cukru a kávy (Obrázek 7.6).



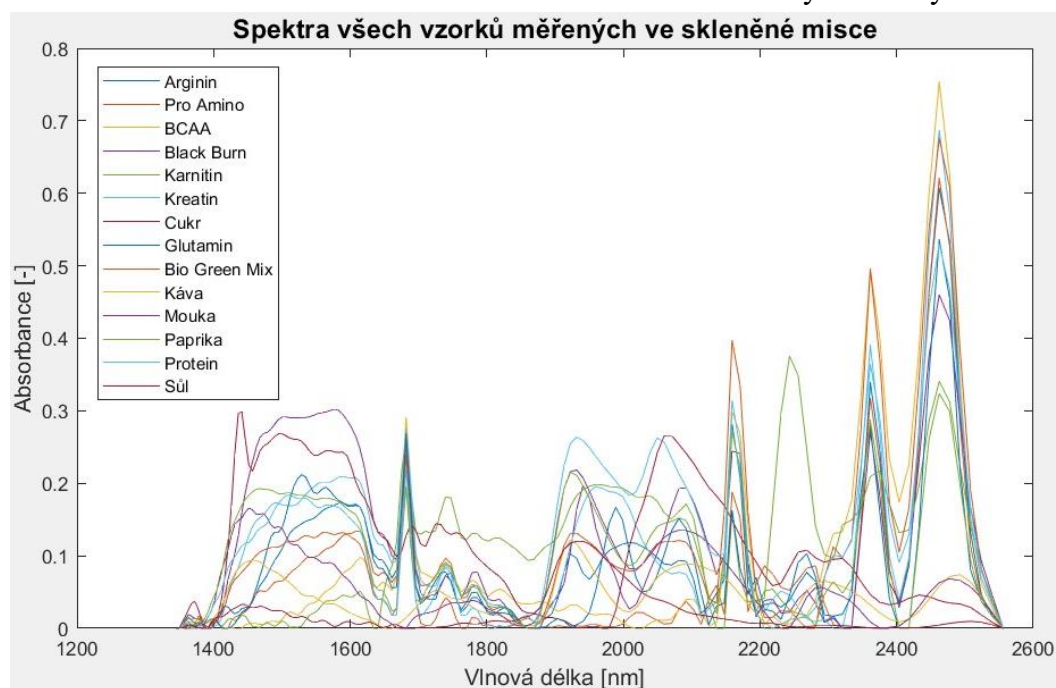
Obrázek 7.7 Spektra použitých kyvet

Při měření byly použity dva druhy nádob. Jejichž spektra můžeme vidět na obrázku 7.7. První z nich byla malá plastová nádoba s kolísavou absorbancí. Téměř nulovou absorbancí měla v oblasti kolem 1700 nm, 2150 nm a rozmezí od 2300-2550 nm. Tato vlastnost skleněné misky se projevila v naměřených datech látek a v těchto oblastech se objevují píky. Jako druhá kyveta byly použity ZIP sáčky, které mají lepší absorbanci a nezasahují do naměřených dat píky v oblasti 1700 nm a 2150 nm.



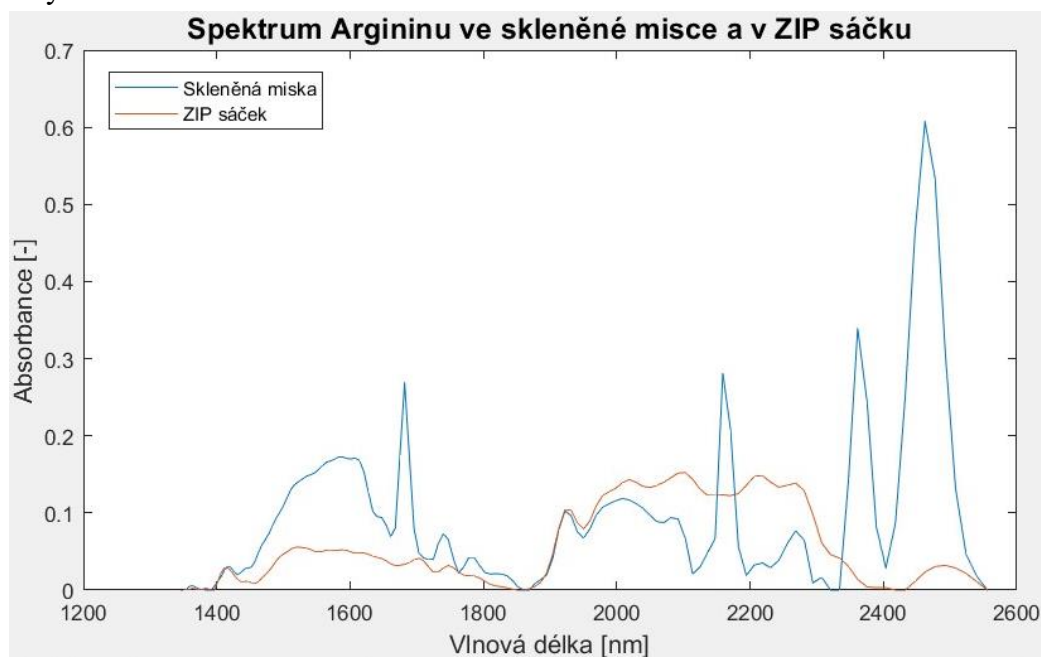
Obrázek 7.8 Spektra všech vzorků měřených v ZIP sáčcích

Na Obrázku 7.8 jsou vykreslena spektra všech vzorků měřených v ZIP sáčcích. Mají podobné absorbance v určitých vlnových délkách. Karnitin má největší hodnotu absorbance ze všech látek. Ta totiž měla nižší absorbanci v určitých vlnových délkách.



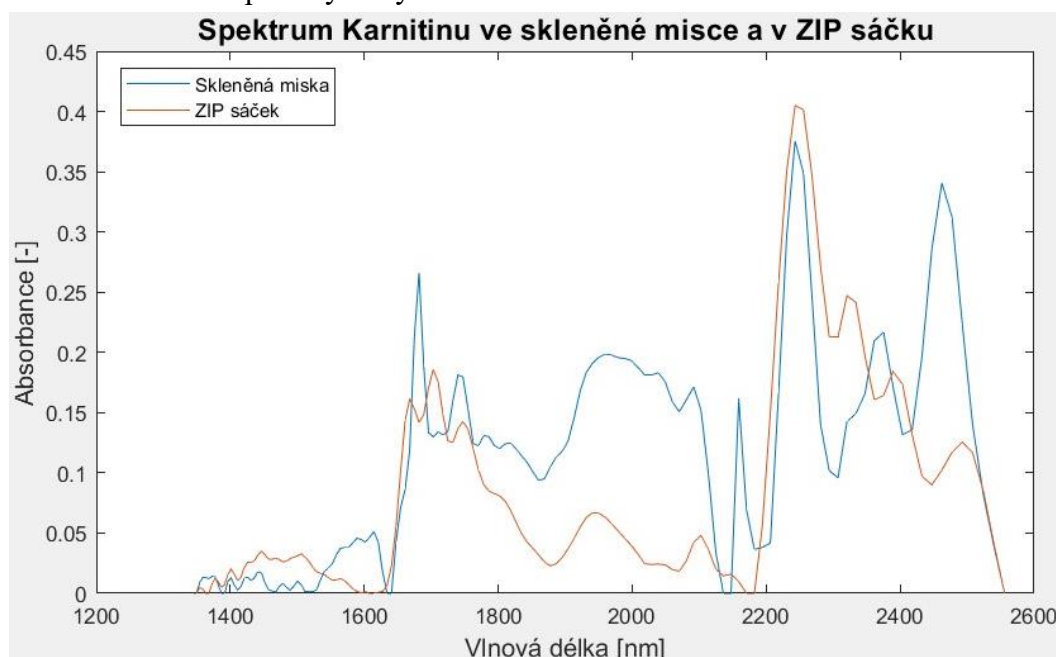
Obrázek 7.9 Spektra všech vzorků měřených ve skleněných miskách

Obrázek 7.9 zachycuje spektra všech vzorků, které jsem použil v mé aplikaci pro klasifikaci látek ve skleněné misce. Zde jde vidět zavádějící faktor u použité skleněné nádoby. Ta totiž



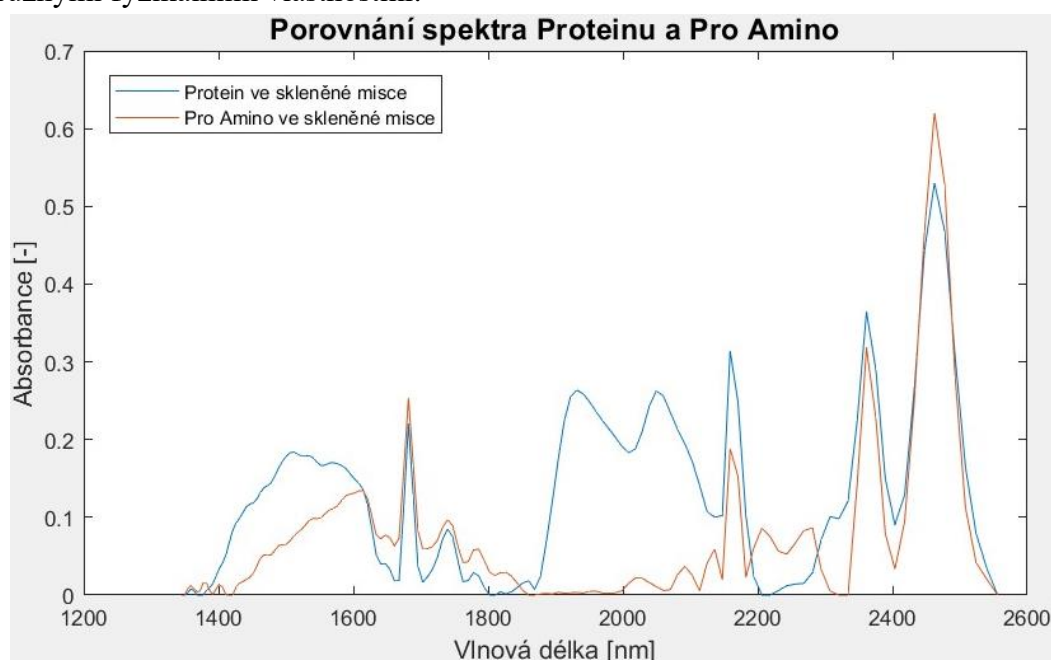
Obrázek 7.10 Spektra Argininu ve skleněné misce a v ZIP sáčku

Obrázek 7.10 ukazuje rozdíl mezi spektrem Argininu umístěného ve skleněné misce a v ZIP sáčku. Lze pozorovat velký rozdíl v absorbanci a chybějící píky. Způsobené odlišnou absorbancí použitých kyvet.



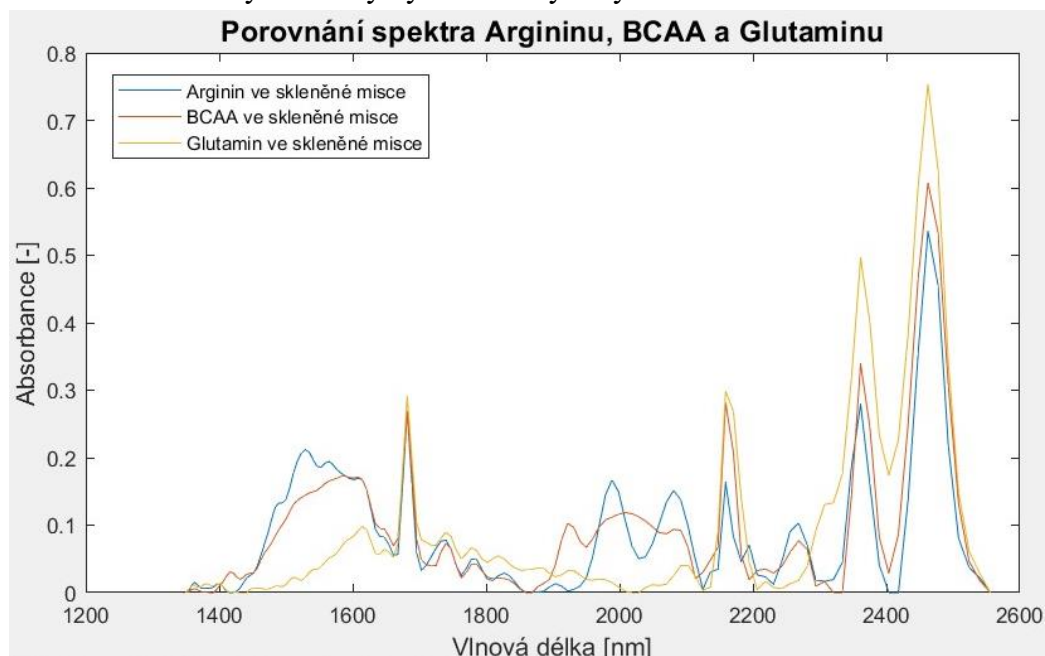
Obrázek 7.11 Spektra Karnitinu ve skleněné misce a v ZIP sáčku

Na obrázku 7.11 můžeme pozorovat porovnání spektra Karnitinu umístěného ve skleněné misce a Karnitinu umístěného v ZIP sáčku. Na obrázku je patrný rozdíl v měření podle chybějících píků. Způsobených použitím dvou odlišných kyvet s různými fyzikálními vlastnostmi.



Obrázek 7.12 Spektra Proteinu a Pro Amino ve skleněných miskách

Na obrázku 7.12 můžeme pozorovat rozdíl mezi spektrem vzorku Proteinu od značky MyProtein, který obsahuje 20 aminokyselin a mezi vzorkem výrobku Pro Amino od výrobce Gymbeam, který obsahuje pouze 9 aminokyselin. K rozdílům dochází ve vlnové délce 1400-1600 nm, 1850-2150 nm a k malému rozdílu dochází také v rozmezí 2200-2350 nm. Oba tyto vzorky byly umístěny v kyvetách.



Obrázek 7.13 Porovnání spektra Argininu, BCAA a Glutaminu ve skleněných miskách

Obrázek 7.13 zachycuje rozdíl mezi spektry Argininu, BCAA a Glutaminu, které byly měřeny ve skleněných miskách. BCAA obsahuje 3 aminokyseliny. Lze pozorovat rozdíl Glutaminu oproti ostatním vzorkům, a to oblouk v oblasti vlnové délky 1450-1650 nm, píky v rozmezí 1900-2100 nm a chybějící pík v oblasti 2200-2300 nm.

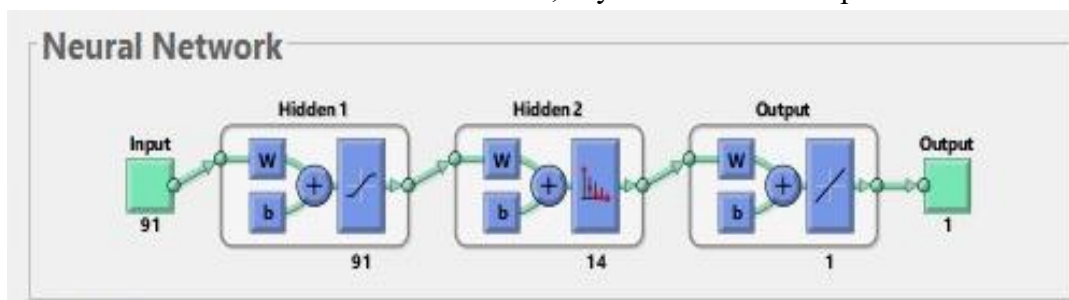
7.2 Aplikace pro klasifikaci neznámé látky

Aplikace funguje na principu učení dvou neuronových sítí. První neuronová síť se učí na balíčku o čtrnácti vzorcích, které byly měřeny ve skleněných miskách. Pro každý z těchto vzorků mám 50 spekter. Z toho 45 spekter mám určeno pouze pro trénování a 5 spekter je vždy použito pro testování, aby nedocházelo ke zkresleným výsledkům. Druhá neuronová síť je určena na vyhodnocení vzorků v ZIP sáčcích. Zde používám 10 vzorků a každý opět o 50 spektrech. Na natrénování první sítě je tedy použito 630 spekter a druhá síť se trénuje na balíčku 450 spekter.



Obrázek 7.14 Schéma úpravy dat

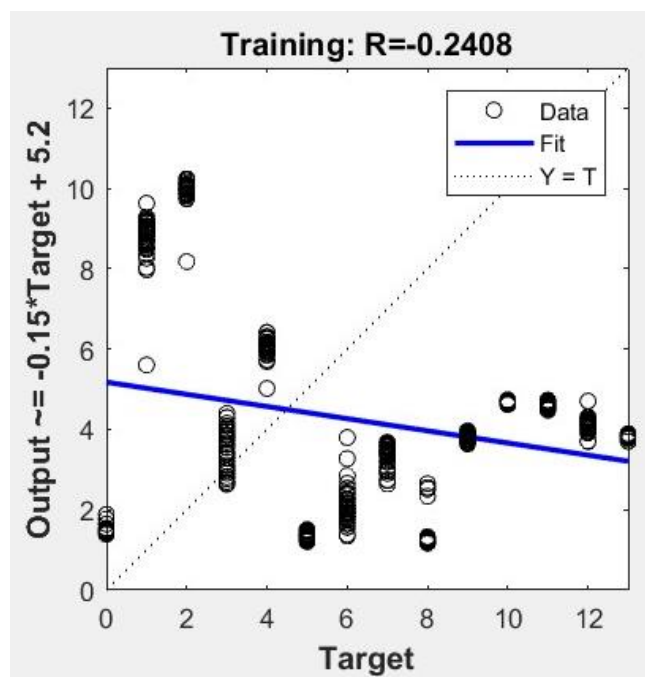
Obrázek 7.14 zobrazuje úkony potřebné ke klasifikaci neznámé látky. Trénovací data je potřeba importovat do aplikace MATLAB verze R2019a. Poté se provádí korekce izolinie a extrakce trénovacích dat. Abych filtroval data, tak vybírám pouze důležitá data, které jsou píky ve spektrech ze všech použitých látek. Poté učím neuronovou síť na těchto trénovacích datech, abych naučil síť k rozpoznání těchto látek.



Obrázek 7.15 Nastavení neuronové sítě

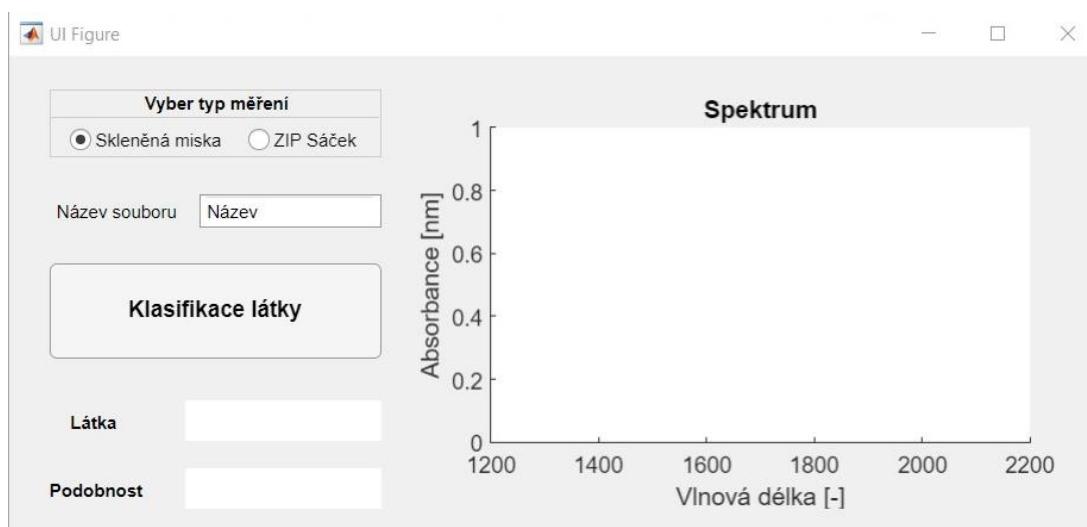
Neuronovou síť nastavuji se dvě vrstvami neuronů (Obrázek 7.15). První vrstva obsahuje 91 neuronů, protože do sítě posílám data o 91 hodnotách. Druhá vrstva se liší podle toho, jestli jde o neuronovou síť učenou na vzorcích ze skleněných misek nebo o síť učenou na vzorcích měřených v ZIP sáčcích. Druhá vrstva neuronové sítě učené na datech ze vzorků měřených ve skleněné misce obsahuje 14 neuronů. Je to tím, že v první síti používám 14 vzorků, protože mám data čtrnácti vzorků. Druhá vrstva druhé neuronové sítě obsahuje 10 neuronů, protože v ZIP sáčcích mám naměřeno pouze 10 vzorků. Pro druhou vrstvu používám nastavení softmax. Softmax je matematická funkce, která převádí vektor čísel na vektor pravděpodobností, kde jsou pravděpodobnosti každé hodnoty úměrné relativnímu měřítku každé hodnoty ve vektoru.

Data určená ke klasifikaci procházejí téměř stejnými úkony jako data trénovací. Všechny tyto úkony se dějí v aplikaci App Designer, která spadá pod MATLAB. Zde je vytvořeno uživatelské prostředí (GUI). V uživatelském prostředí používám stejné úkony jako při trénovacích datech, tudíž data importuji, provádím korekci izoliny, filtruji data a dále pomocí neuronové sítě klasifikuji vzorek a počítám podobnost k tomuto vzorku.



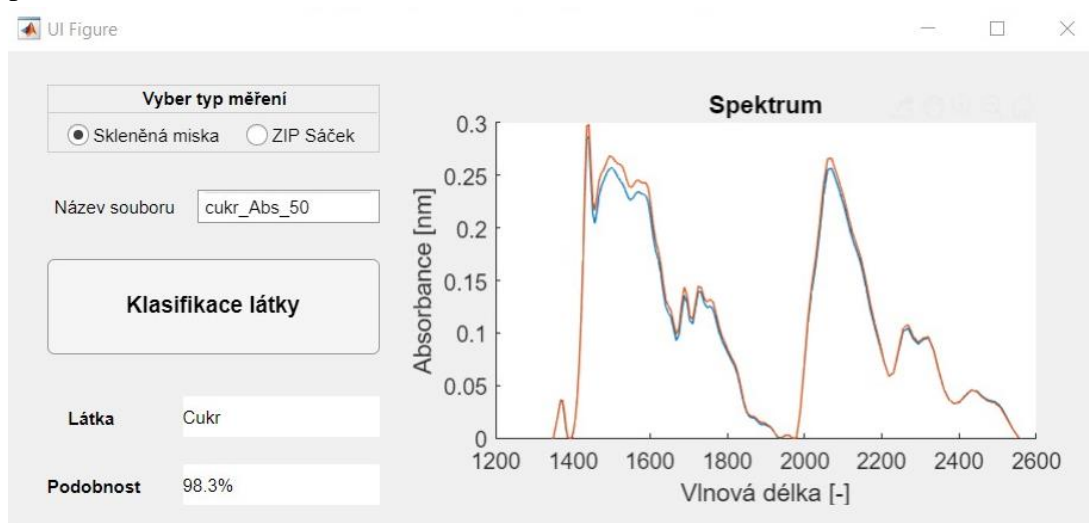
Obrázek 7.16 Rozložení trénovacích dat

Na obrázku 7.16 je znázorněno rozložení naučení první sítě ze které poté vychází klasifikace látek. Některé vzorky se překrývají z důvodu velké podobnosti naměřených vzorků.



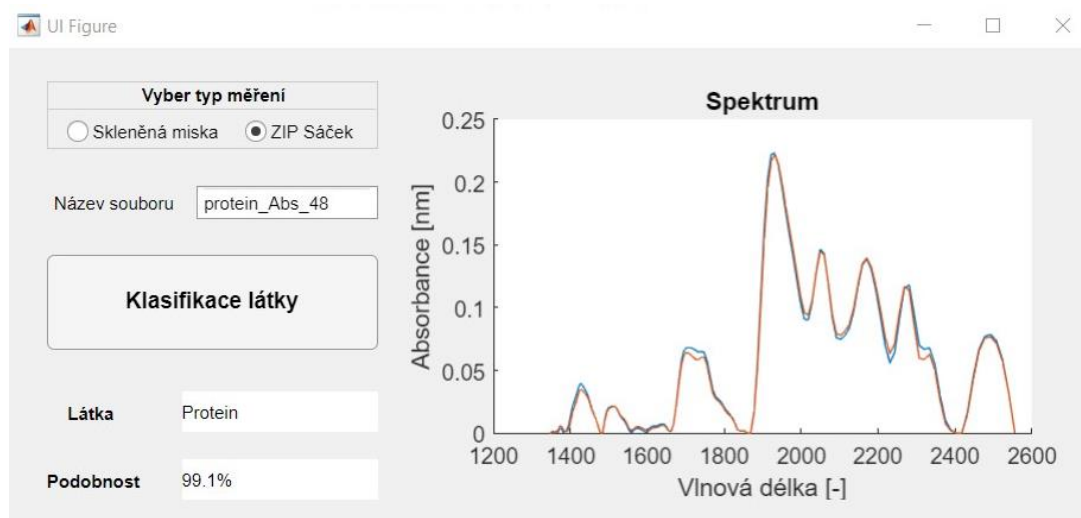
Obrázek 7.17 Uživatelské prostředí aplikace pro rozpoznání neznámé látky

Aplikace (Obrázek 7.17) dává uživateli na výběr, jestli chce klasifikovat látku snímanou ve skleněné misce nebo v ZIP sáčku. Každá z těchto dvou metod má odlišná spektra a musela být naučena zvlášť. Jako další krok je zapotřebí napsat správný název zkoumaného vzorku. A dále už jen spustit klasifikaci. Uživatel dostane výsledek, který vyhodnotí algoritmus jako nejbližší k průměrům vzorků. Tyto průměry byly získány z učení neuronové sítě. Podobnost je počítána jako vzdálenost mezi zkoumaným vzorkem a nejbližším průměrem. Toto číslo následně poděleno celým intervalem vzdálenosti průměrů a vynásobeno stem pro výsledek v procentech. Na pravé straně uživatel dostane k porovnání jeho spektrum a vyhodnocený nejbližší průměr k tomuto spektru.



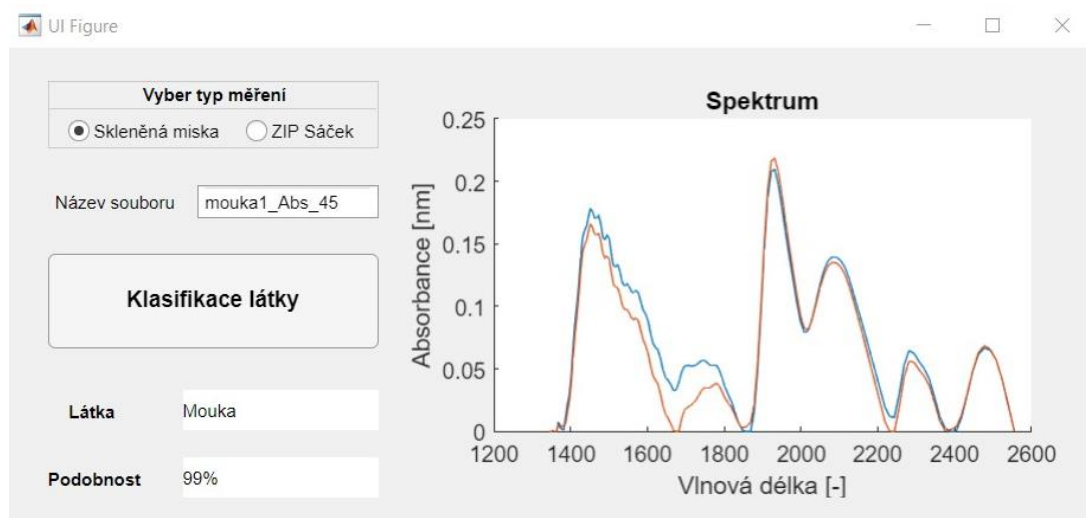
Obrázek 7.18 Aplikace na klasifikaci neznámé látky - cukr ve skleněné misce

Obrázek 7.18 ukazuje správně klasifikovaný vzorek cukru s podobností spekter na 98,3365 %. To ukazuje velmi vysokou podobnost a následnou správnost zařazení vzorku podle spektra



Obrázek 7.19 Aplikace na klasifikaci neznámé látky - protein v ZIP sáčku

Na obrázku 7.19 je znázorněn test vzorku proteinu u kterého došlo ke správnému zařazení s podobností 98,889 %.



Obrázek 7.20 Aplikace na klasifikaci neznámé látky - mouka ve skleněném sáčku

Na obrázku 7.20 je výsledek klasifikace spektra mouky. Porovnaná spektra neznámé mouky a průměrné mouky jsou celkem odlišná, ale i tak neuronová síť klasifikovala látku správně na 99%

Tabulka 7.1 Výsledky učení neuronové sítě pro vzorky ve skleněných miskách

Arginin	Pro Amino	BCAA	Black Burn	Karnitin	Kreatin	Cukr
Arginin	Protein	BCAA	Black Burn	Karnitin	Kreatin	Cukr
Arginin	Pro Amino	Arginin	Black Burn	Karnitin	Kreatin	Cukr
Arginin	Pro Amino	Arginin	Black Burn	Karnitin	Kreatin	Cukr
Arginin	Pro Amino	Arginin	Arginin	Karnitin	Kreatin	Cukr
Arginin	Protein	BCAA	Black Burn	Karnitin	Karnitin	Cukr
5	3	2	4	5	4	5
Glutamin	Bio Green Mix	Káva	Mouka	Paprika	Protein	Sůl
Glutamin	Bio Green Mix	Káva	Protein	Kreatin	Protein	Sůl
Glutamin	Black Burn	Káva	Protein	Kreatin	Protein	Sůl
Glutamin	Black Burn	Káva	Protein	Paprika	Protein	Sůl
Glutamin	Black Burn	Káva	Protein	Paprika	Protein	Sůl
Glutamin	Bio Green Mix	Káva	Mouka	Glutamin	Protein	Sůl
5	2	5	1	2	5	5

V tabulce 7.1 mám zaznamenány výsledky testovacích vzorků. Provedl jsem testování na 70 testovacích vzorcích. Jako první tučně vyznačený řádek jsou uvedeny testované látky. Pod nimi je uvedeno, k jaké látce algoritmus našel největší podobnost. Jako poslední řádek je uveden počet správně zařazených látek. Zde je vidět se kterými vzorky měl algoritmus problémy a zařadil je do špatné kategorie, protože se spektra těchto látek z velké části kryly. Zde můžeme pozorovat problém s identifikací BCAA

od argininu, kdy BCAA se skládá ze tří aminokyselin a mezi spektry těchto aminokyselin je velká podobnost.

Tabulka 7.2 Výsledky učení neuronové sítě pro vzorky v ZIP sáčkích

Arginin	Pro Amino	BCAA	Black Burn	Karnitin
Arginin	Pro Amino	BCAA	Black Burn	Karnitin
Arginin	Pro Amino	BCAA	Black Burn	Pro Amino
Arginin	Pro Amino	BCAA	Black Burn	Karnitin
Arginin	Pro Amino	BCAA	Black Burn	Karnitin
Arginin	Pro Amino	BCAA	Black Burn	Karnitin
5	5	5	5	4
Kreatin	Glutamin	Bio Green Mix	Paprika	Protein
Kreatin	Glutamin	Bio Green Mix	Paprika	Kreatin
Kreatin	Arginin	Kreatin	Paprika	Bio Green Mix
Kreatin	Glutamin	Kreatin	Paprika	Protein
Kreatin	Glutamin	Arginin	Paprika	Protein
Kreatin	Glutamin	Protein	Paprika	Bio Green Mix
5	4	1	5	2

V tabulce 7.2 jsou výsledky testovacích vzorků ze ZIP sáčků. Zde jsou lepší výsledky z důvodu menšího počtu vzorků pro trénování a menší podobnosti mezi spektry. Prováděl jsem test na 50 testovacích vzorcích. U této naučené neuronové sítě jsou o něco lepší výsledky než u neuronové sítě naučené na vzorcích ve skleněných miskách. To mohlo být způsobeno tím, že ZIP sáček měl rovnoměrnější absorpenci světla v různých používaných vlnových délkách. Zde můžeme vidět, že protein měl problém s identifikací a v některých případech se zařadil jako veganský Bio protein.

Tabulka 7.3 Výsledky úspěšnosti aplikace

	Testované vzorky	Správně určené	Správně v %
Síť 1 – skleněné misky	70	53	75,71
Síť 2 – ZIP sáčky	50	41	82,00

Tabulka 7.3 ukazuje výsledky úspěšnosti naučení neuronových sítí použitých v aplikaci pro klasifikaci dat. Výsledky vykazují úspěšnost 75,71% první sítě, kde se používalo 14 látek, a úspěšnost 82% druhé sítě, kde jsem používal jen 10 látek. Špatné výsledky mohli být způsobeny velkými podobnostmi mezi měřenými spektry látek. Ve většině použitých vzorků se jednalo o aminokyseliny a jejich různé kombinace. Horší určování testovacích vzorků mohlo být způsobeno použitím skleněné misky, která zaváděla píky ve spekter na určitých vlnových délkách a potlačovala ostatní vlnové délky. Tímto nastalo několik artefaktů ve spektrech a došlo ke zhoršení identifikace látek.

8. ZÁVĚR

V bakalářské práci bylo teoreticky zpracováno téma optických laboratorních metod se zaměřením na IR spektrum. Teoretická část byla zpracována z odborných zdrojů zaměřených na optické analýzy potravin v IR oblasti, běžně používané postupy pro analýzy IR spekter biologických vzorků a složení látek. V praktické části práce jsem se zaměřil na předzpracování dat a základní analýzy spekter, kde byl dobře vidět rozdíl mezi spektrem cukru a kávy. Dále jsem vytvořil uživatelské prostředí, ve kterém se dají klasifikovat určité naměřené látky, a to buď ve skleněné misce nebo v ZIP sáčku.

Porovnal jsem spektra různých aminokyselin, abych našel rozdíly mezi absorbancí jednotlivých látek. Zavádějícím faktorem byla použitá kyveta. Skleněná miska totiž na některých vlnových délkách absorbovala záření méně a na některých více. ZIP sáček vykazoval stabilnější hodnoty téměř ve všech používaných vlnových délkách. Další důležitý rozdíl mezi použitými kyvetami byla tloušťka, kdy skleněná miska měla tloušťku 1 cm a ZIP sáček obsahoval více zkoumaného vzorku a tloušťka byla několik cm.

Vytvořil jsem aplikaci, kde používám algoritmus pro klasifikaci podobnosti látek pomocí dvou neuronových sítí. V aplikaci je využita jedna neuronová síť naučená na látky měřené ve skleněné misce a druhá, která je naučena na vzorky měřené v ZIP sáčku.

Používané látky jsou velmi podobné svým vzhledem, ale mají odlišnou absorbanci světla při různých vlnových délkách. Těchto fyzikálních vlastností se dá využít při analýze vzorků. Použité látky jsou různé kombinace aminokyselin. Špatné výsledky mohli být způsobeny velkými podobnostmi mezi měřenými spektry látek. Ve většině použitých vzorků se jednalo o aminokyseliny a jejich různé kombinace. Některé z těchto látek obsahovaly dodatečná sladidla, což způsobuje taky určitou podobnost mezi spektry látek.

LITERATURA

- [1] ALANDER, Jarmo, Vladimír BOCHKO, Birgitta MARTINKAUPPI, SirinnapSARANWONG a Timo MANTERE. A Review of Optical Nondestructive Visual and Near-Infrared Methods for Food Quality and Safety. Hindawi Publishing Corporation. 2013, (341402), 36. Dostupné z: doi:<http://dx.doi.org/10.1155/2013/341402>Směrnice č. 72/2017 Úprava, odevzdávání a zveřejňování závěrečných prací. VUT v Brně [online]. Brno: VUT v Brně, 25.3.2019 [cit. 2020-11-10]. Dostupné z: <https://www.vutbr.cz/uredni-deska/vnitri-predpisy-a-dokumenty/smernice-72-2017-uprava-odevzdavani-a-zverejnovani-zaverecnych-praci-d161410>.
- [2] CIBÍČEK, Norbert a Jan VACEK. Principy a využití vybraných analytických metod v laboratorní medicíně. Ústav lékařské chemie a biochemie, LF UP Olomouc: Ústav lékařské chemie a biochemie, LF UP Olomouc, 2014. ISBN 978-80-244-3951-8. ČSN ISO 7144: Dokumentace - Formální úprava disertací a podobných dokumentů. Praha: Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví, 1997.
- [3] MOLLAOGLU, Ayca Dogan, Ipek OZYURT a Feride SEVERCAN. Applications of Infrared Spectroscopy and Microscopy in Diagnosis of Obesity. IntechOpen. 2019. Dostupné z: doi:10.5772/intechopen.81216 ČSN ISO 690: Informace a dokumentace - Pravidla pro bibliografické odkazy a citace informačních zdrojů. Praha: Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví, 2011.
- [4] KANIA, Patrik. INFRAČERVENÁ SPEKTROMETRIE. [online]. Praha: VŠCHT Praha [cit. 2019-11-29]. Dostupné z URL: .
- [5] DENDISOVÁ, Marcela, Pavel ŽVÁTORA a Pavel MATĚJKA. RAMANOVA SPEKTROMETRIE. 2011. Dostupné také z: <http://old.vscht.cz/anl/lach2/RAMAN.pdf>
- [6] MORNSTEIN, Vojtěch. Lékařská fyzika a biofyzika. Brno: Masarykova univerzita, 2018. ISBN 978-80-210-8984-6.
- [7] HÁJEK, Jaroslav, Olga KŘÍŽOVÁ, Vladimíra SEDLÁČKOVÁ, Miroslava a NOVOTNÁ. VYUŽITÍ INFRAČERVENÉ SPEKTROFOTOMETRIE PRO SLEDOVÁNÍ ZMĚN PŘI OXIDACI ŘEPKOVÉHO OLEJE. Chem. listy. 1998, (92), 435.
- [8] McCreery, Richard L., 2000. Raman spectroscopy for chemical analysis. New York: John Wiley. ISBN 04-712-5287-5.
- [9] Lu, X., Al-Qadiri, H.M., Lin, M. et al. Application of Mid-infrared and Raman Spectroscopy to the Study of Bacteria. Food Bioprocess Technol 4, 919–935 (2011). <https://doi.org/10.1007/s11947-011-0516-8>.
- [10] NeoSpectra [online]. [cit. 2020-10-26]. Dostupné z: <https://www.neospectra.com/>.
- [11] HAVELKA, Bedřich a Josef FUKA. I. OPTIKA: Fyzikální kompendium. díl IV. Praha: Státní pedagogické, 1961.

- [12] WOODCOCK, T., Fagan, C.C., O'Donnell C.P. et al. Food Bioprocess Technol 2008 1: 117.
- [13] HALLIDAY, David, Robert RESNICK a Jearl WALKER. Fyzika: vysokoškolská učebnice obecné fyziky. Brno: VUTIUM, 2000. Překlady vysokoškolských učebnic. ISBN 80-214-1868-0.
- [14] NeoSpectra SWS62231 Datasheet [online]. 5 s.
- [15] DOSTÁL, Jiří, Hana PAULOVÁ, Jiří SLANINA a Eva TÁBORSKÁ. Biochemie: pro posluchače bakalářských oborů. Brno: Masarykova univerzita, 2017. ISBN 978-80-210-5020-4.
- [16] HORÁK, J.: Multivariační techniky v prostorových aplikacích. Ostrava 2010. Dostupné z www. http://gis.vsb.cz/pad/Kap_6/kap__6_5.htm.
- [17] DUNTEMAN, G.H.: Principal component analysis, Series: Quantitative Application in the Social Science, United states of America 1989. Dostupné na: WWW. <http://books.google.cz/books>. ISBN 0-8039-3104-2.
- [18] KLECKA, W.R.: Diskriminant analysis, Series: Quantitative Application in the Social Science, United states of America 1980. Dostupné na: WWW. <http://books.google.cz/books>. ISBN 0-8039-1491-1.
- [19] Pederson, C.G., Friedrich, D.M., Hsiung, C., von Gunten, M., O'Brien, N.A., Ramaker, H.-J., van Sprang, E., Dreischor, M. Pocket-Size Near-Infrared Spectrometer for Narcotic Materials Identification. Proc. SPIE 2014; 9101: 91010O.
- [20] ZÁRUBA, Kamil. Analytická chemie. Praha: Vysoká škola chemickotechnologická v Praze, 2016. ISBN 978-80-7080-951-8.
- [21] HIGDON J., et al.: Coffee and health a review of recent human research. Critical and Reviews in Food Science Nutrition 46 , 2, 2006.
- [22] TIMSON, J. Caffeine. Mut. Res. Rev. Genet. Toxicol., 1977, vol. 47, p. 1-52.
- [23] Umělá inteligence v medicíně: Shluková analýza [online]. [cit. 2021-01-06]. VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ.
- [24] Klasifikace a struktura sacharidů [online]. c2017 [citováno 5. 01. 2021]. Dostupný z WWW:
<https://www.wikiskripta.eu/index.php?title=Klasifikace_a_struktura_sacharid%C5%AF&oldid=366952>
- [25] SOBČÁKOVÁ, Lubica. CO JSOU PROTEINY. Benu [online]. 13.12.2018 [cit. 2021-01-05]. Dostupné z: <https://www.benu.cz/co-jsou-proteiny>
- [26] Wikipedie: Otevřená encyklopedie: Bílkoviny ve sportovní výživě [online]. c2020 [citováno 5. 01. 2021]. Dostupný z WWW:
<https://cs.wikipedia.org/w/index.php?title=B%C3%ADlkoviny_ve_sportovn%C3%AD_v%C3%BD%C5%BEiv%C4%9B&oldid=19203664>
- [27] Wikipedie: Otevřená encyklopedie: Synefrin [online]. c2020 [citováno 5. 01. 2021]. Dostupný z WWW:
<<https://cs.wikipedia.org/w/index.php?title=Synefrin&oldid=19307512>>

- [28] VLADIMÍR, Baumruk. Instrumentace Ramanovy spektroskopie [online]. Univerzita Karlova v Praze [cit. 2021-01-29]. Dostupné z: <http://alma.karlov.mff.cuni.cz/nfpl145/RS%20instrumentace.pdf>
- [29] FRANCA, AS., MENDONCA, JCF., OLIVEIRA, SD.: Composition of green and roasted coffees of different cup qualities. LWT – Food Sci. Technik, 2005, vol. 38, p. 709-715.
- [30] JIŘÍ, Kozumplík a Provazník IVO. Umělá inteligence v medicíně [online]. Brno, 2007 [cit. 2021-01-30].
- [31] PIRKL, Petr. BIOLOGICKÁ ANALÝZA V BLÍZKÉ IR OBLASTI [online]. BRNO, 2020 [cit. 2021-5-20]. Dostupné z: <https://dspace.vutbr.cz/xmlui/bitstream/handle/11012/190317/final-thesis.pdf?sequence=2&isAllowed=y>. BAKALÁŘSKÁ PRÁCE. VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ. Vedoucí práce Ing. Vratislav Čmiel, Ph.D.
- [32] Seite „Spectralon“. In: Wikipedia, Die freie Enzyklopädie. Bearbeitungsstand: 18. Juli 2020, 15:32 UTC.
URL: <https://de.wikipedia.org/w/index.php?title=Spectralon&oldid=201992359> (Abgerufen: 20. Mai 2021, 13:48 UTC)
- [33] Encyklopedie. EFIA.cz etická fitness aliance [online]. [cit. 2021-5-22]. Dostupné z: <https://www.efia.cz/encyklopedie/>
- [34] Cole J.T. (2015) Metabolism of BCAAs. In: Rajendram R., Preedy V., Patel V. (eds) Branched Chain Amino Acids in Clinical Nutrition. Nutrition and Health. Humana Press, New York, NY. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-1923-9_2
- [35] DAOOD, Hussein G, József KAPITÁNY, Péter BIACS a Katalin ALBRECHT. Drying temperature, endogenous antioxidants and capsaicinoids affect carotenoid stability in paprika (red pepper spice). Journal of the Science of Food and Agriculture [online]. 2006, 86(14), 2450-2457 [cit. 2021-5-22]. ISSN 0022-5142. Dostupné z: doi:10.1002/jsfa.2639
- [36] Sugar. Wikipedia: the free encyclopedia [online]. San Francisco (CA): Wikimedia Foundation [cit. 2021-5-22]. Dostupné z: <https://en.wikipedia.org/wiki/Sugar>
- [37] Sodium chloride. Wikipedia: the free encyclopedia [online]. San Francisco (CA): Wikimedia Foundation [cit. 2021-5-22]. Dostupné z: https://en.wikipedia.org/wiki/Sodium_chloride
- [38] Flour. Wikipedia: the free encyclopedia [online]. San Francisco (CA): Wikimedia Foundation [cit. 2021-5-22]. Dostupné z: <https://en.wikipedia.org/wiki/Flour>
- [39] ProAMINO 390 g. GymBeam [online]. [cit. 2021-5-22]. Dostupné z: <https://gymbeam.cz/proami-no-390-g-gymbeam.html>
- [40] Spalovač tuků Black Burn Micronized - Stacker2. GymBeam [online]. [cit. 2021-5-22]. Dostupné z: <https://gymbeam.cz/spalovac-tuku-black-burn-micronized-stacker2.html>
- [41] BIO Greens Mix - VanaVita. GymBeam [online]. [cit. 2021-5-22]. Dostupné z: <https://gymbeam.cz/bio-greens-mix-vanavita.html>

SEZNAM PŘÍLOH

PŘÍLOHA A - OBSAH ELEKTRONICKÉ PŘÍLOHY	58
---	-----------

Příloha A - Obsah elektronické přílohy

Příložený soubor obsahuje 4 složky s daty. Jedná se o neospectra_data, import_data, spektrum_data a sit_prumery_intervaly. Jako další obsahuje 8 skriptů psaných v Matlabu R2019a, které byly použity při práci s daty. Používají se 2 hlavní skripty upravující data, učí síť a následně prování testování a dopočítávání dalších důležitých hodnot používaných pro klasifikaci. Jeden další skript důležitý k extrakci naměřených dat. Dále 5 pomocných funkcí, které se volají v hlavních funkcích. A nejdůležitější skript obsahující kód aplikace pro klasifikaci dat.

A.1 Soubory s daty

neospectra_data

Soubor obsahuje data ve formátu SPECTRUM. Tato data byla uložena po měření vzorků v softwaru SpectroMOST_Micro_1.0.

import_data

Data importovaná do Matlabu a upravená do maticového tvaru pro následnou práci.

spektrum_data

Předzpracovaná data, které vykresluji k porovnání a následné učení sítě.

sit_prumery_intervaly

Obsahuje natrénované sítě, data k počítání podobnosti, průměry hodnot vzorků, soubor pro extrakci dat a vlnovou délku.

A.2 Matlab skripty

import_train_1

Tento hlavní skript pro druhou neuronovou síť obsahuje import trénovacích dat, korekci izolinie trénovacích dat, vykreslení spekter trénovacích dat, filtraci trénovacích dat, učení sítě a následné úpravy vystupujících hodnot sítě dle kterých se následně klasifikují látky.

import_train_2

Tento hlavní skript pro druhou neuronovou síť obsahuje import trénovacích dat, korekci izolinie trénovacích dat, vykreslení spekter trénovacích dat, filtraci trénovacích dat, učení sítě a následné úpravy vystupujících hodnot sítě dle kterých se následně klasifikují látky.

prumer

Tento skript obsahuje funkci k průměrování spekter látek.

korekce_izolinie

Skript obsahující funkci, která provádí korekci izolinie.

kontrola_izolinie

Skript obsahující funkci, která kontroluje správnost izolinie pro následnou opravu.

oprava_izolinie

Skript obsahující funkci, která opravuje izolinii, pokud spektrum je komplikované a nestačí jedna úprava.

extrakce dat

V tomto skriptu probíhá filtrace nepotřebných naměřených dat ze spekter.

nacteni

Jedná se o pomocný skript, pomocí kterého se načítají použité látky.

aplikace

Toto je skript s naprogramovanou aplikací ke klasifikaci látek. Aplikace využívá 2 naučené neuronové sítě.